



**T.C.
SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
ANKARA DIŞKAPI YILDIRIM BEYAZIT
SAĞLIK UYGULAMA VE ARAŞTIRMA MERKEZİ
ÜROLOJİ KLİNİĞİ**

**RATLARDA SİSPLATİN KEMOTERAPİSİNİN TESTİS
DOKUSU ÜZERİNE TOKSİSİTESİNİ ÖNLEMEDE
TADALAFİL VE N-ASETİL SİSTEİN
MOLEKÜLLERİNİN KORUYUCU ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Dr. Alihan KOKURCAN

TIPTA UZMANLIK TEZİ

ANKARA/2020



**T.C.
SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
ANKARA DIŞKAPI YILDIRIM BEYAZIT
SAĞLIK UYGULAMA VE ARAŞTIRMA MERKEZİ
ÜROLOJİ KLİNİĞİ**

**RATLARDA SİSPLATİN KEMOTERAPİSİNİN TESTİS
DOKUSU ÜZERİNE TOKSİSİTESİNİ ÖNLEMEDE
TADALAFİL VE N-ASETİL SİSTEİN
MOLEKÜLLERİNİN KORUYUCU ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Dr. Alihan KOKURCAN

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Ufuk ÖZTÜRK

TIPTA UZMANLIK TEZİ

ANKARA/2020

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince benimle bilgi ve tecrübe edinmemi sağlayan, bana tekrar tekrar bir Ürolog olmanın önemini öğreten; bana güvenerek sevdiğim doktorluk mesleğinde kendi ayaklarım üzerinde durmamı sağlayan Sayın Prof. Dr. M. Abdurrahim İMAMOĞLU ve Sayın Prof. Dr. Fatih YALÇINKAYA hocalarıma,

Tezimin başlangıcından sonuna kadar her aşamada benden desteklerini esirgemeyen, her problemle karşılaştığımda yanımda olan Doç. Dr. Ufuk ÖZTÜRK abime,

Bilgi ve tecrübeleri sayesinde Üroloji mesleğini bana tekrar tekrar sevdiren Doç. Dr. Hikmet TOPALOĞLU, Doç. Dr. A. Levent SAĞNAK, Doç. Dr. H. G. Göksel GÖKTUĞ, Doç. Dr. Osman R. KARABACAK, Doç. Dr. A. Nihat KARAKOYUNLU, Doç. Dr. Sertaç ÇİMEN, Doç. Dr. Alper GÖK, Op. Dr. Orhan YİĞİTBAŞI, Op. Dr. Ali R. UGAN, Op. Dr. E. Ozan AKAY, Op. Dr. Aşır ERASLAN, Op. Dr. Selim AŞÇIOĞLU, Op. Dr. Hilmi SARI, Op. Dr. Ahmet E. DOĞAN abilerime,

Tezimi yapmamı sağlayan Sağlık Bilimleri Üniversitesi ve SBÜ Dışkapı Yıldırım SUAM'a

Tezim sırasında benden yardımlarını esirgemeyen ablam Dr. Demet YILMAZER'e ve abim Dr. Fevzi Nuri AYDIN'a

Aralarında bulunduğum süre boyunca her zaman yanında birlikte çalışmaktan keyif aldığım Op. Dr. Burhan BAYLAN, Op. Dr. Çağlar ÇAKICI, Op. Dr. Muhammet YILMAZ, Dr. Fatih SANDIKÇI, Dr. Şerafettin KAYMAK, Dr. Şamil UYSAL, Dr. Görkem ÖZENÇ, Dr. Ömer Akın ÖZKAN, Dr. Anar AGHAYEV, Dr. Tarık KÜÇÜK, Dr. Berk EKENCİ, Dr. Mehmet ALTAN, Dr. İbrahim Arda HAYRAN, Dr. Hüseyin Mert DURAK, Dr. Engin TELLİ, Dr. Samet ERKARTAL'a

Bugünlere gelmemde en çok emeği geçen, her şartta yanımda ve bana destek olan canım annem Saadet KOKURCAN, babam Nafiz KOKURCAN ve kardeşlerim Tahsin Batuhan KOKURCAN, meslektaşım Berkehan KOKURCAN'a

Asistanlık hayatım boyunca desteğini ve inancını bir an olsun benden esirgemeyen canım eşim Dr. Özden KOKURCAN'a

Sonsuz teşekkür ederim.

Dr. Alihan KOKURCAN

Ankara, 2020

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
İÇİNDEKİLER.....	ii
KISALTMALAR.....	iv
TABLO LİSTESİ.....	vi
ŞEKİL LİSTESİ.....	vii
ÖZET.....	viii
ABSTRACT.....	x
1. GİRİŞ ve AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. TESTİS.....	3
2.1.1. Testisin Anatomisi.....	3
2.1.2. Testisin Histolojisi.....	4
2.1.3. Testisin Embriyolojisi.....	8
2.2. TESTİS TÜMÖRLERİ.....	11
2.2.1. Epidemiyoloji.....	11
2.2.2. Etiyoloji.....	11
2.2.3. Tanı.....	12
2.2.4. Evreleme.....	18
2.2.5. Tedavi.....	23
2.3. SİSPLATİN.....	25
2.4. TADALAFİL.....	29
2.5. N-ASETİL SİSTEİN.....	32
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	34
3.1. DENEY HAYVANLARI.....	34
3.2. DENEY GRUPLARI.....	35

3.3. IŞIK MİKROSKOBİK İNCELEME VE HİSTOLOJİK BULGULAR.....	39
3.4. İMMUNHİSTOKİMYASAL İNCELEME.....	40
3.5. SERUM TESTOSTERON ÖLÇÜLMESİ.....	40
3.6. DOKUDA MDA ÖLÇÜLMESİ.....	41
3.7. İSTATİSTİKSEL YÖNTEMLER.....	41
4. BULGULAR.....	43
4.1. VÜCUT AĞIRLIKLARI VE AĞIRLIK DEĞİŞİMLERİ.....	43
4.2. TESTİS AĞIRLIKLARI, TESTİS HACİMLERİ.....	47
4.3. KAN TESTOSTERON, TESTİS MDA, COSENTİNO VE JOHNSEN SKORLARI, APOPTOTİK İNDEKS.....	51
5. TARTIŞMA.....	58
6. SONUÇLAR.....	70
KAYNAKLAR.....	71
ÖZGEÇMİŞ.....	84
EKLER.....	86
EK-1 TEZ KONUSU ONAY FORMU.....	86
EK-2 TEZ KONUSU HAKEM DEĞERLENDİRME FORMU.....	89
EK-3 DENEY HAYVANLARI ETİK KURUL BAŞVURU ONAYI.....	91
EK-4 BİLİMSEL ÇALIŞMALARI DESTEKLEME ONAY FORMU.....	92
EK-5 DENEY HAYVANLARI KULLANIM SERTİFİKASI.....	93

KISALTMALAR

ABP	: Androjen Bağlayıcı Protein
AFP	: Alfa-Feto Protein
AJCC	: Amerika Birleşik Kanser Komitesi
ALP	: Alkalen Fosfataz
ALT	: Alanin Transaminaz
AMH	: Anti-Müllerian Hormon
AST	: Aspartat Transaminaz
BEP	: Bleomisin, Etoposid, Sisplatin
BSA	: Sığır Serum Albumini
BT	: Bilgisayarlı Tomografi
Ca⁺⁺	: Kalsiyum İyonu
CAT	: Katalaz
cGMP	: Siklik Guanozin Monofosfat
CGRP	: Kalsitonin Gen İlişkili Peptid
ED	: Erektile Disfonksiyon
EK	: Embriyonel Karsinom
EP	: Etoposid, Sisplatin
FDA	: Amerikan Gıda ve İlaç İdaresi
FSH	: Folikül Stimülizan Hormon
GHT	: Germ Hücreli Tümör
GLP-2	: Glukagon Like Peptid 2
GSH	: Glutatyon
Gy	: Grey
hCG	: Human Koryonik Gonadotropin
IGCCCG	: International Germ Cell Cancer Collaborative Group
INSL-3	: Insulin Benzeri Like Hormon 3
IP	: İntraperitoneal

IV	: İntravenöz
KOAH	: Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı
KT	: Kemoterapi
LC-MS	: Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry
LDH	: Laktat Dehidrogenaz
LH	: Luteinleştirici Hormon
MRG	: Manyetik Rezonans Görüntüleme
NAS	: N-Asetil Sistein
NO	: Nitrik Oksit
NSGHT	: Non-Seminamatöz Germ Hücreli Tümör
PBS	: Fosfat Tamponlu Tuz
PDE-11	: Fosfodiesteraz 11
PDE-5	: Fosfodiesteraz 5
PET	: Pozitron Emisyon Tomografisi
PLAP	: Plasental Alkalen Fosfataz
RPLND	: Retroperitoneal Lenf Nodu Diseksiyonu
RT	: Radyoterapi
SOD	: Süperoksit Dismutaz
SS	: Standart Sapma
TGF-β	: Transforming Growth Faktör β
TIP	: Paklitaksel, İfosfomid, Sisplatin
TNM	: Tümör, Lenf Nodu, Metastaz evreleme sistemi
TT	: Testis Tümörü
VeIP	: Vinblastin, İfosfomid, Sisplatin
VIP	: Etoposid, İfosfamid, Sisplatin
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü
5'GMP	: 5' Guanozin Monofosfat
5-HT₃	: Serotonin
5-PDİ	: 5- Fosfodiesteraz İnhibitörü

TABLO LİSTESİ

Tablo 1. Cosentino skorlaması	5
Tablo 2. Johnsen skorlaması	7
Tablo 3. Testis Kanseri Türleri.....	14
Tablo 4. TNM Evrelemesi.....	19
Tablo 5. AJCC'ye göre Tümör Evreleri.....	21
Tablo 6. Metastatik testis tümöründe International Germ Cell Cancer Collaborative Group sınıflaması.....	22
Tablo 7. Tadalafil ve diğer 5PDEi farmokinetiği.....	31
Tablo 8. Yem Besin içeriği.....	34
Tablo 9. Ratların vücut ağırlıkları	44
Tablo 10. Ratların vücut ağırlık değişimleri.....	46
Tablo 11. Ratların sağ ve sol testis ağırlıkları	48
Tablo 12. Ratların testis hacimleri	50
Tablo 13. Ratların testosteron, testis MDA, Cosentino, Johnsen ve apoptotik indeks skorları	53
Tablo 14. Rat kan testosteron, testiküler doku MDA'sının Testis Ağırlıklarına Oranı	57

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. Testisin anatomisi	4
Şekil 2. Spermatogenez aşamaları	6
Şekil 3. Hipotalamus-Hipofiz-Gonadal aks	7
Şekil 4. Testis Histolojik Görüntüsü	8
Şekil 5. Testisin gelişimi	10
Şekil 6. Sisplatinin nefrotoksisite üzerinde olan etkisi	27
Şekil 7. Sisplatin molekülü	28
Şekil 8. Sisplatinin testis toksisitesi etki mekanizması	29
Şekil 9. Tadalafıl molekülü	31
Şekil 10. NAS molekülü	33
Şekil 11. Ratların çalışma sırasında bulundukları oda koşulları ve kafesleri	36
Şekil 12. Ratlara i.p NAS verilmesi	37
Şekil 13. Ratlara NG ile tadalafıl solüsyonu verilmesi	37
Şekil 14. Ratlara IM olarak anestezi madde verilmesi	38
Şekil 15. Ratlardan intrakardiak kan alınması	38
Şekil 16. Ratların skrotal eksplorasyon ve testis eksizyonu	39
Şekil 17. Ratların çalışma süresince vücut ağırlığı değişimleri	46
Şekil 18. Ratların testis ağırlık grafiği	48
Şekil 19. Rat Testis Hacimleri	50
Şekil 20. Hematoksilen&Eozin Boyama	54
Şekil 21. Anti-APAF 1 ile Boyama	55

ÖZET

RATLARDA SISPLATIN KEMOTERAPISININ TESTIS DOKUSU ÜZERİNE TOKSİSİTESİNİ ÖNLEMEDE TADALAFİL VE N-ASETİL SİSTEİN MOLEKÜLLERİNİN KORUYUCU ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Amaç: Sisplatin (cis-diamminedichloroplatinum-II) günümüzde solid kanser tedavisinde en sık kullanılan kemoterapatik ajanlardan biridir. Sisplatin kanser hücreleri üzerinde etki gösterirken aynı zamanda testis, böbrek, gastrointestinal trakt, karaciğer, kalp, kan elemanları ve kulak gibi normal dokuları da etkilemektedir ve bu dokularda yaptığı hasarın önlenmesi merakla araştırma konusu olmuştur. Biz de tadalafil ve N-Asetil Sistein (NAS) moleküllerini, sisplatinin rat testisinde oluşturduğu hasarı önleyip önlemediğini araştırmak istedik ve deneysel bir çalışma dizayn ettik.

Gereç ve Yöntem: 40 adet Wistar-Albino rat 5 gruba ayrıldı. Kontrol grubu, sisplatin grubu, sisplatin+tadalafil grubu, sisplatin+NAS grubu, sisplatin+tadalafil+NAS grubu oluşturuldu. Çalışma sonunda vücut ve testis ağırlıkları, testis hacimleri, kan testosteron düzeyleri, testis doku MDA, histopatolojik özellikleri, testis Cosentino ve Johnsen skorları gruplar arasında karşılaştırılarak değerlendirildi.

Bulgular: Sisplatin verilen ratlarda kan testosteron seviyesinde düşme, testis dokusunda belirgin dejenerasyon ve apoptoz görülmekte, doku MDA seviyesinde yükselme izlenmektedir. Gruplar arasında vücut ağırlıkları ve testis ağırlıkları ve Johnsen skorları açısından istatistiksel fark saptanmadı. Tadalafil ve NAS kullanımının apoptotik indeksi etkilediği, bu gruplarda apoptotik indeks ve Cosentino skorlarının düştüğü görüldü. Bu düşüşün en fazla sisplatin+tadalafil+NAS kombinasyon grubunda olduğu izlendi. Sisplatin tedavisinin kan testosteron seviyesini düşürdüğü, tadalafil verildiği zaman kan testosteron seviyesini korunduğu, NAS tedavisinin ve kombinasyon tedavisinin kan testosteron seviyesi üzerinde etkili olmadığı görüldü.

Sonuç: Sisplatin kemoterapisi vücutta tüm normal dokular gibi testis dokusunu da etkilemektedir. Sisplatinin oluşturduğu histopatolojik değışikliklerin tadalafil+NAS kombinasyon tedavisi ile engellenebildiği, doku ağırlığı birim başına kan testosteron seviyesindeki düşüklüğün önlenebildiği görölmüştür.

Anahtar Kelimeler: Apoptozis, N-Asetil Sistein, Rat, Sisplatin, Tadalafil, Testis



ABSTRACT

PROTECTIVE EFFECT IN TADALAFIL AND N-ACETYLCYSTEIN THERAPY ON CISPLATIN-INDUCED TESTICULAR TOXICITY IN RATS

Aim: Cisplatin (cis-diamminedichloroplatinum-II) is one of the most commonly used chemotherapeutic agent in the treatment of solid cancer today. While cisplatin acts on cancer cells, it also affects normal tissues such as testis, kidney, gastrointestinal tract, liver, heart, blood elements and ear. The prevention of damage to these tissues has been a subject of research with interest. We wanted to investigate whether tadalafil and N-acetyl cysteine (NAC) molecules prevent the damage caused by cisplatin in rat testicles and designed an experimental study.

Materials and Methods: 40 Wistar-Albino rats divided into 5 groups. Control group, cisplatin group, cisplatin+tadalafil group, cisplatin+NAC group, cisplatin+tadalafil+NAC group was created. At the end of the study, body and testicular weights, testicular volumes, blood testosterone levels, testicular tissue MDA, histopathological characteristics, testicular Cosentino and Johnsen scores were compared and evaluated between the groups.

Results: In rats given cisplatin: decrease in blood testosterone levels, significant degeneration and apoptosis in testicular tissue and an increase in tissue MDA levels were seen. There was no significant difference between the groups in terms of body weights and Johnsen scores. It was observed that the use of tadalafil and NAC affected the apoptotic index and Cosentino scores were decreased in these groups. And also it was observed that this increase was the most in cisplatin+tadalafil+NAC combination group. It was seen that cisplatin treatment decreased the blood testosterone levels and when tadalafil given blood testosterone levels were maintained and NAC treatment and combination therapy did not affect blood testosterone levels.

Conclusion: Cisplatin chemotherapy affects the testicular tissue like all normal tissues in the body. It has been observed that histopathological changes and the decrease in blood testosterone level per unit weight caused by cisplatin can be prevented by tadalafil+NAC combination therapy.

Key Words: Apoptosis, Cisplatin, N-acetylcysteine, Rat, Tadalafil, Testis



1. GİRİŞ ve AMAÇ

Sisplatin (cis-diamminedichloroplatinum-II) günümüzde solid kanser tedavisinde ilk basamakta sık kullanılan platin grubu kemoterapi (KT) ailesi içerisinde yer almaktadır. Sisplatin KT'si testis, mesane, akciğer, serviks, sarkom, lenfoma ve baş-boyun kanserlerinde tek başına veya başka bir kemoterapötik ajan ile kombine olarak kullanılabilir (1). Suda çözünebilen bu kemoterapik ajan oda şartlarında beyaz veya sarı renk tonlarında bulunabilir (1). Sisplatin metabolik aktif olan kanser hücreleri üzerinde etkisinin gösterirken; aynı zamanda testis, böbrek, gastrointestinal trakt, karaciğer, kalp, kan elemanları ve kulak gibi normal dokular üzerinde de istenmeyen bazı etkiler görülebilmektedir (2). Sisplatin hücre içerisinde aktifleşerek hücre çekirdeğine geçer ve ardından DNA üzerindeki pürin bazlarına takılarak DNA hasarına yol açar ve hücrede apoptozu başlatır (3). Sisplatin'in diğer bir etkisi hücre içerisinde reaktif oksidan madde artışına neden olmaktır (1,3). Bu artış hücre içi ve zarındaki protein ve lipidlerin normal yapısını bozarak peroksidasyon ve apoptoz sürecini başlatır. Sisplatin'in bahsedilen etkilerinden korunmak amacıyla daha önce çeşitli çalışmalarda birçok molekül denenmiştir (3-7).

Tadalafil molekülü 5-Fosfodiesteraz inhibitörleri (5-PDI) ailesi içerisinde yer almaktadır. 5-PDI'ler aslen Erektile Disfonksiyon (ED) tedavisinde kullanılmaktadır. 5-PDI'ler bu durumun yanı sıra pulmoner hipertansiyon ve bazı deneysel alanlarda da kendine yer bulmaktadır (8). Özellikle antioksidan etkileri nedeniyle dokularda bazı olumlu etkilere neden olduğunu görmek mümkündür (9). Bu aileye ait bir molekül olan sildenafilin testis dokusu üzerinde olumlu etkileri olduğu daha önce başka çalışmalarda gösterilmiştir (10).

N-Asetil Sistein (NAS) molekülü ise doğal bir aminoasit olan L-sistein'in N-asetillenmiş türevi olup esas olarak mukolitik bir ajan olarak kullanılmaktadır. Diğer bir etkisi olan antioksidan özellikleri nedeniyle sisplatin etkileri dahil çeşitli patolojilere karşı dokuda koruyucu etkileri daha önce bazı çalışmalarda gösterilmiştir (11).

Özellikle Üroloji’de yaygın görülen malignitelerden biri olan testis tümörlerinde ilk basamak tedavi orşiektomidir (12,13). Operasyon sonrasında hastalardaki soliter sağlam testis hem hormonal denge hem de fertilité açısından önem taşımaktadır. Orşiektomi sonrası uygulanacak KT ve diğer tedaviler kalan tek testisi olumsuz yönde etkilemekte, hastalarda spermatogenez bozulmaktadır (3). Ayrıca diğer maligniteler için de KT ve radyoterapi (RT) gibi sistemik tedavi alan hastalarda testislerin etkilenme riski bulunmaktadır. Bu durum özellikle fertilitenin önemli olduğu genç erkek olgularda daha da dikkat edilmesi gereken bir husustur.

Biz de bu çalışmamızda bir hayvan deneyi modeli planlayarak tadafıl ve NAS moleküllerinin hem tek tek hem kombine kullanımları ile testis dokusu üzerinde sisplatin tarafından oluşturulan zararlı etkilerinin önlenip önlenemeyeceğini biyokimyasal ve histopatolojik temelde araştırmak istedik.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. TESTİS

2.1.1. Testisin Anatomisi

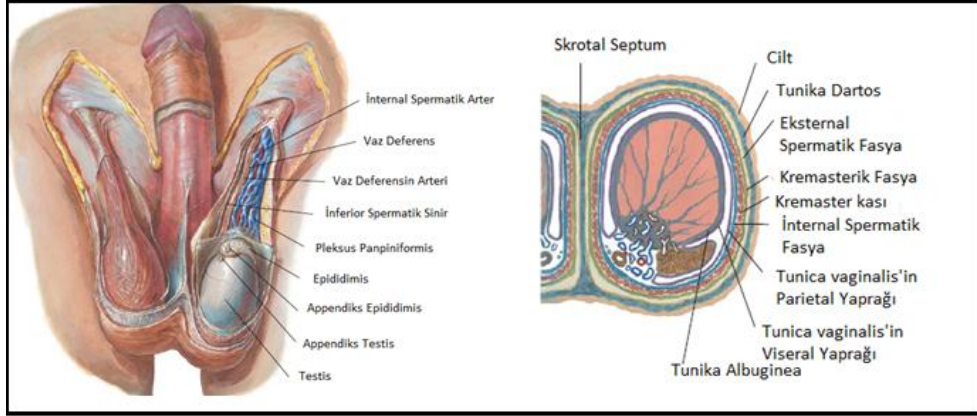
Testisler tunika albuginea isimli zar yapının içerisinde bulunan yaklaşık 4 cm uzunluğunda, 3 cm genişliğinde, 15-25 mL hacminde en dışta skrotum cildi ile sarılı skrotal kavite içerisinde bulunan bir organdır. Testis dokusu içerisinde sperm üretimi ve olgunlaşmasının yanı sıra testosteron üretimi de gerçekleşmektedir. Testiküler dokular ve ekleri anatomik olarak belirli katmanlar tarafından sarılmıştır. Bu katmanlar dıştan içe cilt- tunica dartos- fascia spermatica externa-musculus cremaster ve fascia cremasterica- fascia spermatica interna- tunica vaginalis parietal yaprağı olarak sıralanabilir (14). Ayrıca testisin iç tabakasında testisi saran 3 katlı yapı bulunmaktadır. Bu yapılar dışarıdan içeriye doğru tunica vaginalisin visceral yaprağı-tunica albuginea ve tunica vaskulosa'dır. Testisin kranio posteriorundan "Mediastinum Testis" adında seminal kanalların çıktığı yapı görülmektedir.

Testisin kanlanması 3 farklı arterden olmaktadır. Bunlar a. testicularis (a. spermatica interna), a. ductus deferentis ve a. spermatica externa'dır (15). İnternal spermatik arter abdominal aorta'dan köken alır. A. spermatica interna, internal inguinal halka seviyesinde spermatik korda eşlik etmeye başlar (14). Mediastinum testis hizasında çok sayıda küçük dallar vererek testisin beslenmesini sağlar. A. ductus deferentis, a. vesicalis superior ve/veya a. vesicalis inferior'dan köken alır. Vaz deferens ve kauda epididimisi besler.

Venler intratestiküler olarak arterlere eşlik etmezler. Testisin venleri pleksus panpiniformiste 2 dal olarak çıkar. İlki anterior dal olan v. spermatica interna'dır ve vena cavaya drene olur, posterior dalı ise v. epigastrica inferior veya v. pudenda interna'ya drene olur (14).

Testis inervasyonu T10-11. Segmentlerden gelen sinir lifleri ile sağlanır. Bu lifler spermatik damarların etrafında dolanarak spermatik kord içerisinde seyreder

ve sempatik-parasempatik lifleri taşır. Bu sinir testosteron salgılanma regülasyonunda rol almaktadır (14).



Şekil 1. Testisin anatomisi (14)

2.1.2. Testisin Histolojisi

Tunica vaginalis'in alt katında sıkı bağ dokudan oluşan tunica albuginea yapısı bulunmaktadır. Tunica albuginea mediastinum testisi oluşturduktan sonra testisi 250-300 tane koni şeklinde lobüllere ayıran septalar oluşturur. Bu septalar tunica albuginea'nın iç yüzüne gevşek bir şekilde bağlanmıştır. Her lobülün içerisinde o lobülü besleyen merkezi bir adet arteri bulunur (16-18).

Lobüllerin içerisinde 1-4 adet seminifer tübül bulunur (17). Seminifer tübüller U şeklinde ve kıvrıntılı yapıdadır. Kıvrıntılı yapılar düz olarak açıldığında yaklaşık 1 m uzunluğa ulaşır. Seminifer tübülün her iki ucu rete testise açılır. Seminifer tübüller gelişmekte olan spermatogenik (germ) hücrelerini içermektedir. Seminifer tübüllerin bazal membranında sertoli hücreleri, fibrositler ve myoid hücreler gibi destekleyici elemanlar bulunur. Seminifer tübüller etrafında gevşek bağ doku bulunur. Bu doku içerisinde testosteron üretimi yapan leydig hücreleri, mast hücreleri, makrofaj, kan damarları, lenfatik damarlar ve sinirler bulunur. Bu gevşek bağ doku testisin hacminin yaklaşık %20-30'unu kapsar (17,18).

Sertoli hücreleri puberteden sonra çoğalma yeteneğini kaybeden, düşük mitotik indeksli hücrelerdir. Belirgin nükleol yapıları ve düzensiz şekilli çekirdekleri

vardır. Sertoli hücrelerinin germ hücrelerini beslemek, korumak ve artık maddeleri fagosite etme görevleri mevcuttur. Bu görevler ile spermatogenezde önemli bir işlev görür. Aynı zamanda inhibin proteinleri, folikül stimulan hormon (FSH) etkisiyle androjen bağlayıcı protein (ABP) üretimi, transferrin, seruloplazmin, antimüllerian hormon (AMH) üretim ve salınımı gibi görevleri de bulunmaktadır (17,19). Sertoli hücreleri tarafından üretilen aktivin ve inhibin hormonları FSH düzey kontrolü açısından feed-back mekanizmasını oluşturur (19). Sertoli hücreleri arasında güçlü-sıkı kavşaklar vardır. Kavşak yapısı kan-testis bariyerini oluşturur. Seminifer tübüller düzleşir ve her lobülün tepesine doğru tubuli recti oluşturular. Buradan tübül ağı yani rete testisi oluşturularak mediasten testis içerisine girerler. Bu şekilde her lobül epididimal kanala açılan bir kanal üretmiş olur (18). Testis normal histolojisi yapısı Cosentino skorlaması tablosu ile değerlendirilir.

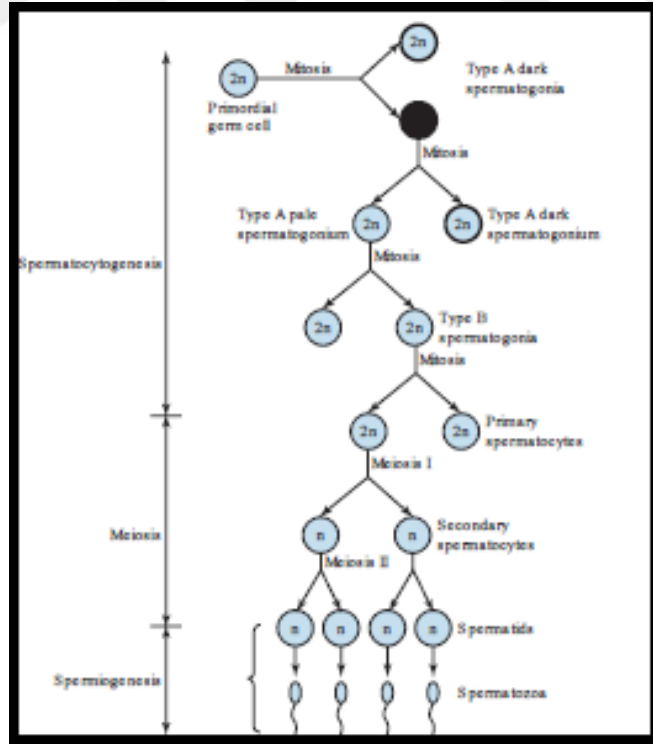
Tablo 1. Cosentino skorlaması (10)

Grade	Karakteristik
1	Germinal hücrelerin düzenli olarak dizildiği normal testiküler yapı
2	Hasarın gösterdiği daha az düzenli yapışkan olmayan germinal hücreler ve daha yakın yerleşimli seminifer tübüller
3	Hasarın gösterdiği küçülmüş piknotik çekirdekli, düzensiz yerleşimli, dökülmüş germinal hücreler ve sınırları daha az belirgin olan seminifer tübüller
4	Hasarın gösterdiği koagülasyon nekrozuna sahip olan germ hücreleri ve sıkı yerleşimli seminifer tübüller

Leydig hücreleri tarafınca salgılanan testosteron, yetişkinde spermatogenezden ve sekonder (ikincil) seks karakterlerinin oluşumundan sorumludur. Luteinleştirici hormon (LH) etkisi ile leydig hücrelerinden salgılanan testosteronun %34'ü kanda serbest olarak bulunurken, %66'sı ABP ile bağlı olarak bulunur. Kandaki testosteron miktarı LH'nin feed-back mekanizması ile dengede tutulmaktadır (17,18).

Spermatogenez, spermatogonyumlardan spermatozoonların olduğu 64 günlük bir eylemdir. Bu eylem 3 evreden oluşur. Bu evreler spermatositogenez,

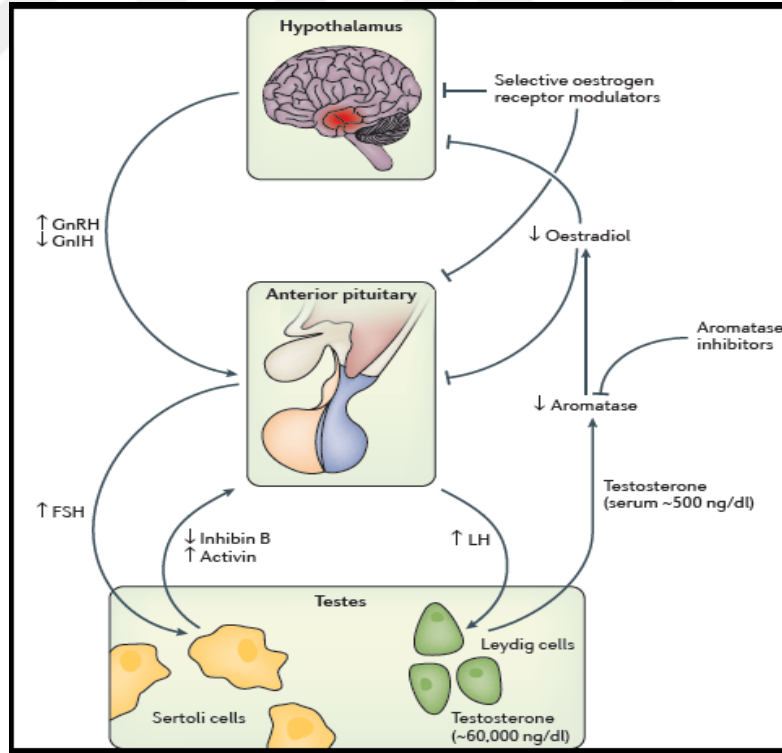
mayoz ve spermiyogenez evreleridir. Bu evreler sırasında seminifer tübül bazal laminasından tübül lümenine doğru uzanan 4-8 tabaka hücre dizilimi görülür. Spermatogenez başlangıcında 3 farklı kök hücre izlenmektedir. Bunlar: koyu tip A kök hücresi, soluk tip A kök hücresi ve tip B kök hücresidir. Tip A kök hücreleri mitozla çoğalırken, bazıları ileriki dönemde kullanılmak üzere depo edilirler. Geri kalan tip A hücreleri farklılaşarak tip B kök hücrelerine dönüşmektedir. Tip B kök hücreleri mitoz geçirerek primer spermatositleri oluşturur. Primer spermatositler oluşmasının ardından mayoz bölünmeye girerler. Mayoz bölünmenin başında diploid ($2n$) kromozom sayısına sahip olan hücreler mayoz bölünmenin ilk basamağından sonra haploid (n) kromozom sayısına sahip sekonder spermatositleri oluşturur. Sekonder spermatositler mayoz bölünmenin ikinci kısmına girerek haploid kromozom sayısına sahip spermatidleri oluşturur. Spermatidler daha sonra spermiyogenez evresinde golgi fazı, akrozom fazı ve maturasyon fazından geçerek olgunlaşarak spermatozoon hücrelerini oluştururlar (18). Olgun normal spermatozoon yapısı Johnsen skorlaması ile değerlendirilebilmektedir.



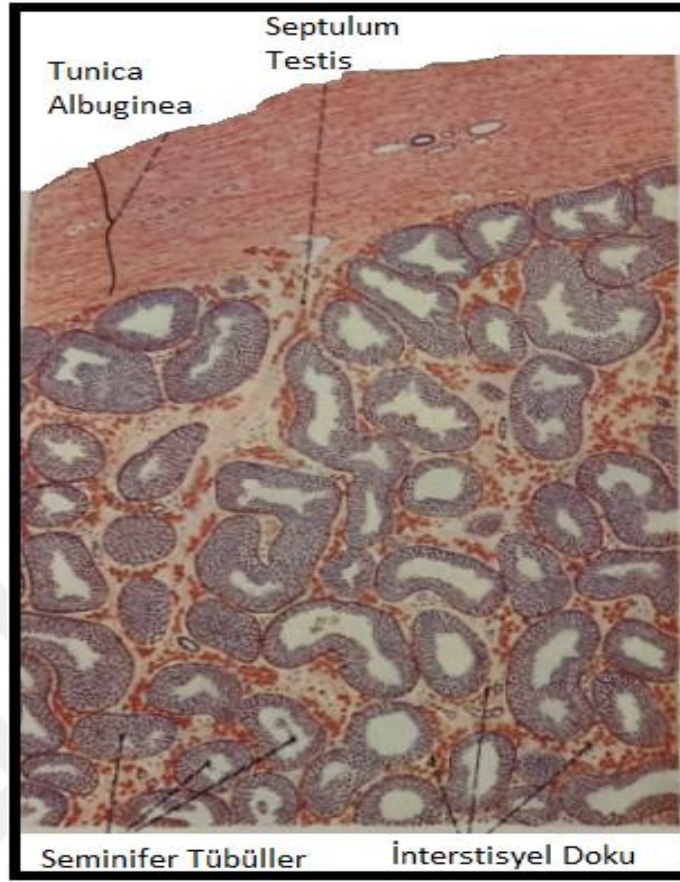
Şekil 2. Spermatogenez aşamaları (20)

Tablo 2. Johnsen skorlaması (21)

Skor	Karakteristik
1	Germ hücresi ve sertoli hücresi yok
2	Germ hücresi yok yalnızca sertoli hücresi mevcut
3	Yalnızca spermatogonia mevcut
4	Yalnızca birkaç spermatosit mevcut
5	Spermatozoa veya spermatid yok, ancak çok sayıda spermatosit mevcut.
6	Yalnızca birkaç spermatid mevcut
7	Spermatozoa yok ancak çok sayıda spermatid mevcut
8	Sadece birkaç adet spermatozoa mevcut
9	Çok sayıda spermatozoa mevcut ancak germinal epitel düzensiz
10	Tamamlanmış spermatogenez ve normal organize tübüller



Şekil 3. Hipotalamus-Hipofiz-Gonadal aks (19)



Şekil 4. Testis Histolojik Görüntüsü (22)

2.1.3. Testisin Embriyolojisi

Primordial gonadlar alt torasik ve üst lomber bölgede iki taraflı çöломik epitel ve altındaki mezenşimden gelişerek gonadal çıkıntıları oluşturur. Gebeliğin 3. haftasında vitellüs kesesinde gelişen germ hücreleri dorsal mezenter boyunca hareket ederek gonadal çıkıntılara ulaşır. Eğer bu göç hareketi başarısız olursa gonadların gelişimi durur. Gebeliğin 6. haftasında gonadal çıkıntıların yüzey epiteli mezenşime doğru uzayarak primitif seks kordonlarını oluşturur (16).

Embriyodaki gonadın türü fertilizasyon esnasında belli olmasına rağmen intrauterin gelişimin ilk 7-8. haftasına kadar erkek ve kadın gonadları aynıdır. Bu dönemden sonra Y kromozomunun tek ekzonlu bir gen olan SRY geninin aktifleşmesine ve bu gene bağlı SOX9 geninin aktifleşmesine bağlı olarak gonadlar

testis yönünde farklılaşmaya başlar (23). Sertoli hücreleri tarafından salınan AMH gebeliğin 8-12. haftasında müllerian kanalın fallopi tüpleri, uterus ve vajinanın üst kısmına diferansiye olmasını önlerken, leydig hücrelerinden salınan testosteron ile wolf kanalı epididim, vaz deferens ve seminal veziküle farklılaşır (24).

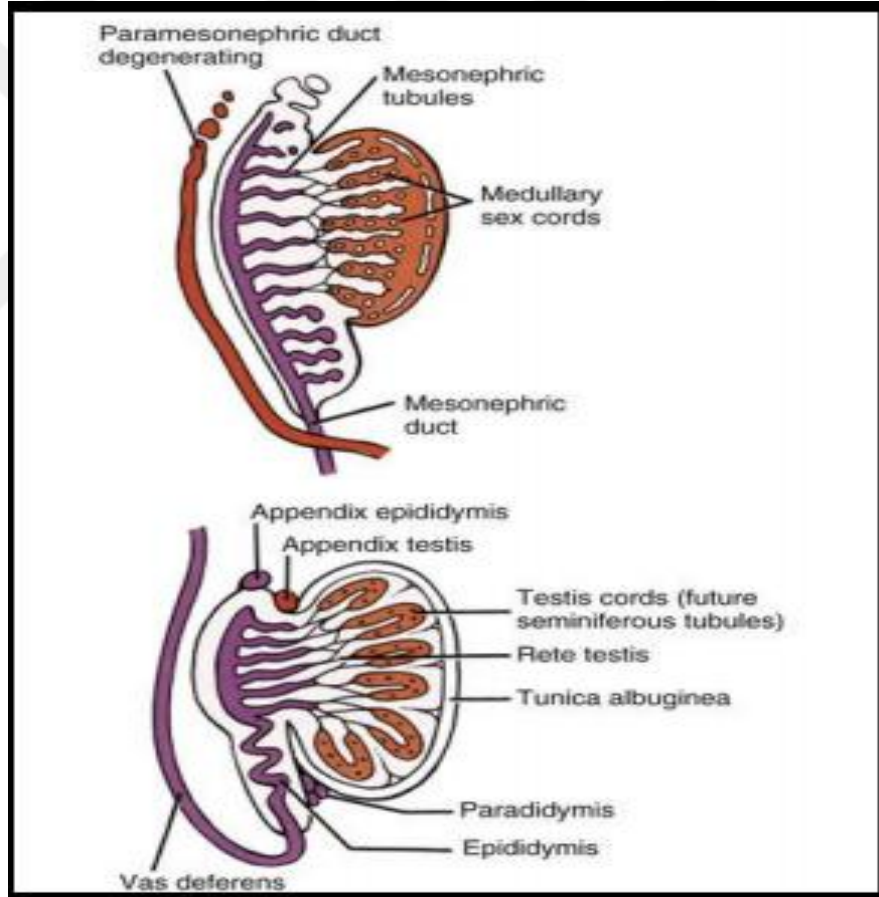
Gonadın medüller bölgesindeki hücreler ve göç eden germ hücreleri ile birlikte SRY geni etkisi altında oluşan sertoli hücreleri ve germ hücreleri direkt temas aracılığıyla testiküler epitel kordonlarını oluşturur. Pubertede bu epitel kordonları tübularize olarak seminifer tübülleri oluşturur (25,26).

Gebeliğin 16. haftasında tübülleri oluşturacak kordonların atnalı şeklini alır ve distal uçları birleşerek epigenital tübül isimli boşaltım kanallarından farklılaşan ince duvarlı rete testisi oluşturur (25,26). Testisin medial kısmında 5-12 tane arasındaki rete testis ağı duktuli efferentislere açılır (26). Paramezonefrik kanallar AMH nedeniyle kranial kısımdaki appendiks testis hariç dejenere olurken testosteron etkisi ile dejenere olan kranialdeki appendiks epididimis haricindeki yapılar ana boşaltım kanalları olan epididimis ve vaz deferensi oluşturmak üzere farklılaşırlar (26). Gebeliğin 12. haftasında testis gelişimi devam ettikçe bağ dokudan köken alan tunica albuginea oluşarak testis ile çevre mezotelden ayıran kılıf oluşur (23).

Gebeliğin 2. ayına kadar alt torakal ve üst lomber bölgede bulunan testis, mezonefroz ile karın arka duvar arasındaki bağlantı ürogenital mezenter ile olur. Daha sonra mezonefroz dejenere olur ve bu mezenter yapısı sadece testis mezenterisi olarak kalır. Mezenter kaudalde sadece ligament olarak kalır. Bu ligament kaudal genital ligament veya gubernakulum olarak adlandırılır. Bu kaudal kısmın gelişimi leydig hücreleri tarafından salgılanan insülin benzeri hormon 3 (INSL-3) ile gerçekleşir (24).

Testisin skrotuma inişi 2 basamakta gerçekleşir. Bu evreler transabdominal evre ve inguinokrotal evredir. INSL-3'ün transabdominal evredeki, androjenlerin ve kalsitonin gen ilişkili peptidin (CGRP) inguinokrotal evredeki primer sorumlu hormon olduğu düşünülmektedir (24). Testisin inişinden önce gubernakulum olarak adlandırılan ligament inguinal bölgede internal ve eksternal abdominal oblik kasları arasında uzanırken iniş başladığı zaman kasın ekstra abdominal kısmı oluşur ve bu

kısım gebeliğin 25-35. haftalarında skrotum tabanına kadar büyür. Testis karın arka duvarını takip ederek inguinal bölgeye kadar gelir. Gebeliğin 28-35. haftaları arasında testisin karın ön duvarından ve pubis kemiğinin önünden aşağı inmesi ile birlikte doğumda testisler skrotum içerisinde gözlenir. Ayrıca çöломik boşluktan karın her iki tarafında cepler oluşur ve processus vaginalis ismini alır. Processus vaginalisi oluşturan katların testis skrotuma indikten sonra testisi saran iç kısmına tunika vaginalisin viseral tabakası, dış kısmına tunika vaginalisin parietal tabakası adı verilir. Doğumdan sonraki ilk 1 yıl içerisinde vaginal processus kapanmış olur (24-26).



Şekil 5. Testisin gelişimi (23)

2.2. TESTİS TÜMÖRLERİ

2.2.1. Epidemiyoloji

Testis tümörleri (TT) erkeklerde tüm kanserlerin %1'ini oluşturmakta olup 20-35 yaş arası erkeklerde en sık görülen solid organ kanseridir. Tüm ürolojik malignitelerin ise %5'ini oluşturur (27,28). Ürolojik kanserler genel olarak yaşla birlikte artma eğilimindeyken testis kanseri insidansında yaşla birlikte artış gözlenmez. İnsidans etnik, sosyoekonomik ve coğrafi koşullara bağlı olarak değişim gösterebilmektedir. Asya ve Afrika kökenli erkeklerde 100.000'de 1'den az görülürken, Avrupalı erkeklerde 100.000'de 410 oranında görülür (29,30).

Son 10 yıl içerisinde TT insidansı yaklaşık olarak her yıl için % 1,2 oranında artma eğilimindedir. İnsidanda görülen bu artış, etyolojide çevresel faktörlerin rolü olduğunu düşündürmektedir (29,31). Son yıllarda testis tümöründe mortalite azalmış olup, mortalitenin azalmasının nedenleri KT rejimlerindeki etkinlik artışı ve hastalığın daha erken evrelerde saptanmasıdır (32).

2.2.2. Etiyoloji

TT'lerinin etiyolojisi tam net olarak ortaya konulmamış olmakla birlikte bazı ajanlar ve bazı durumlar etiyolojide suçlanmaktadır. Bu duruma yol açan hem konjenital hem de edinsel nedenler olabileceği düşünülmektedir. En iyi bilinen risk faktörü inmemiş testis öyküsüdür. Son yıllarda yapılan çalışmalarda testis tümörlü hastaların %7-10'unda inmemiş testis öyküsü olduğu saptanmıştır. İnmemiş testis öyküsü olan hastalarda tümör oluşum mekanizması olarak ısı artışı, kan akımı bozulması, germ hücre morfolojisi bozulması düşünülmektedir. Orşiektomi yapılan hastalarda ise malignite riskinin azalmadığı düşünülmektedir (33). Daha önce testis kanseri tanısı almış bir hastanın diğer testisinde ikincil bir kanser gelişme riski, %2-3'dür. Testis tümörlerinde aile öyküsü önemli olup hastaların yaklaşık %2'si testis kanseri olan bir aile üyesine sahiptir (34,35).

Son yıllarda testis tümörleri etiyopatogenezinde hormonların özellikle de östrojenin etkisi üzerinde durulmaktadır. Gebelik sırasında dietilstilbestron veya

östrojen içeren oral kontraseptif kullanan kadınların erkek çocuklarında ürolojik anomaliler gözlenmiş olup bu çocuklarda testis tümörü gelişme insidansının yaklaşık olarak %2,8-5,3 oranında arttığı gösterilmiştir (36,37).

Testiküler mikrolithiazis testis içerisinde yerleşimli çok sayıda küçük kalsifikasyonların varlığıyla seyreden bir patolojidir. Testiküler mikrolithiazis hastalarında testis tümörleri daha sık olarak karşılaşmaktadır (38). Kimyasal karsinojenlere maruziyet ve orşit gibi durumlar yine bilinen diğer risk faktörleridir (39).

2.2.3. Tanı

Hastalar genel olarak ağrısız testiküler kitle ile başvururlar. Hasta ayaktaiken yapılan muayenede testiste farkedilen sertlik veya nodül bulunması aksi ispat edilene kadar TT belirtisidir. Ayırıcı tanıda orşit ve torsiyon akılda tutulmalıdır. TT şüphesi olan hastada skrotal ultrasondan faydalanmak mümkündür. Özellikle hidrosel gibi testis parankiminin palpasyonunun engellendiği durumlarda oldukça faydalıdır. TT varlığı fizik muayenede kesin olarak anlaşıyorsa ultrason yapılması gereksizdir (40).

Alfa-feto protein (AFP), human koryonik gonadotropin (hCG), laktat dehidrogenaz (LDH), plasental alkalen fosfataz (PALP) gibi serum tümör belirteçleri testis tümörlerinin tanı, evreleme, prognozunun belirlenmesi, tedavi seçimi, tedaviye yanıtının değerlendirilmesi gibi birçok konuda aktif olarak kullanılmaktadır (41).

AFP: Yolk sac hücrelerince üretilen glikoproteindir. Yarılanma ömrü 5-7 gün olup testis tümörleri dışında karaciğer ve pankreas kanserleriyle 1 yaş altındaki çocuklarda da serumda yüksek izlenebilir. Pür seminom ve koryakarsinomda AFP yükselmezken embriyonel karsinom ve yolk sac tümörlerinde yüksek seyreder. Klinik evre ilerledikçe AFP yüksekliğinin görülme oranı artar (42,43).

hCG: Alfa ve beta olmak üzere iki alt birimi olan sinsityotrofoblastik hücrelerden salgılanan bir glikoproteindir. Testis tümörlerinde yüksekliği en sık gözlenen belirteç olup testis tümörleriyle birlikte karaciğer, pankreas, mide, mesane

tümörleri ve multiple myelomda yüksek seyredebilir. Serum yarılanma ömrü 1-2 gündür. Koryokarsinomlu hastaların tamamında, embriyonel karsinomlu hastaların %40-60'ında seminomlu hastaların %7'sinde serum hCG seviyesi yüksektir (42,43).

LDH: Testis tümörlerine spesifik olmayan, serumdaki seviyesi tümör yüküyle doğru orantılı olan prognostik öneme sahip bir enzimdir. Testis tümörüne özgü olmayışı nedeniyle tanıdaki önemi sınırlıdır. Vücutta mide, çizgili kaslar, karaciğer, böbrek gibi hemen her dokuda bulunabilir. Hastalığın klinik evresi ilerledikçe LDH seviyelerinde yükselme gözlenir. Germ hücreli tümörlü hastaların %40-60'ında LDH yüksek seyreder. Yarılanma ömrü 4-5 gündür (42,44).

PLAP: Pür seminom takibinde değerli olabilir ancak kullanımı düşüktür. Özellikle sigara içenlerde yanlış sonuçlar çıkabileceği için o hasta grubunda kullanımı önerilmemektedir (45).

Manyetik rezonans görüntüleme (MRG), Bilgisayar tomografi (BT), Pozitron Emisyon Tomografisi (PET) gibi tetkikler testis tümörü tanı ve evrelemesinde önemli bir yere sahiptirler (46,47).

Testis kanserlerinin büyük çoğunluğu germ hücreli tümörleridir (GHT).

Tablo 3. Testis Kanseri Türleri (47)

○ Germ Hücreli Tümörler
➤ Seminom
➤ Non-Seminomatöz Germ Hücreli Tümörler
❖ Embriyonel karsinom
❖ Yolk sac karsinom
❖ Teratom
❖ Malign Teratom
❖ Mikst Germ Hücreli Tümör
❖ Spermatositik Tümör
○ Seks Kord Stromal Tümör
❖ Sertoli hücreli tümör
❖ Leydig hücreli tümör
❖ Granüloza hücreli tümör
❖ Mikst tip
❖ Sınıflandırılmayan
○ Mikst germ hücreli ve stromal tümörler
❖ Gonadoblastom
○ Adneksial ve Paratestiküler Tümörler
❖ Rete testis adenokarsinomu
❖ Epididimis adenokarsinomu
❖ Mezotelyoma
○ Lenfoma
○ Metastaz

2.2.3.1. Germ hücreli tümörler

Testis tümörlerinin yaklaşık %95'ini oluşturmaktadır. GHT'ler temelde saf seminomlar ve seminamatöz olmayan GHT'ler olarak ikiye ayrılmaktadır (48,49).

Seminom: GHT'ler içerisinde en sık görülen tümörler seminomlar olup tüm GHT'lerin yaklaşık %50'sini oluşturmaktadır. En sık 35-40'lı yaşlarda görülür. Fizik muayenede sıklıkla testis büyüktür ve ağrısız, solid, homojen bir kitle şeklinde ele gelir. Hidroset eşlik edebilir. Seminomlar sıklıkla unilateral olmakla birlikte bilateral olgular da mevcuttur. Seminomlarda LDH ve hCG yüksekliği görülebilir. Ancak AFP yükseliği gözlenmez. hCG yüksekliğinin nedeni seminom içerisindeki sinsityotrofoblastların hormon üretimine bağlıdır. hCG yüksekliğine bağlı olarak eksoftalmus, hiperkalsemi, polistemi gibi bulgular görülebilir (50,51). Mikroskopik olarak glikojenden zengin, berrak sitoplazması ve belirgin çekirdekçisi olan hücreler şeklinde ayırt edilir. Malign bir tümör olan seminom sıklıkla erken evrede yakalanır ve erken evrede kür şansı %95'lere ulaşmaktadır (52,53).

Embriyonel Karsinom: Pür embriyonel karsinom (EK), GHT'lerin yaklaşık %2-3'ünü oluşturur ancak genelde mikst tip GHT'lerin komponentlerinden biri olarak karşımıza çıkar. Mikst GHT'lerde %87 oranında görülür. En sık 2. ve 3. dekatta karşımıza çıkar. Pür EK'de AFP yüksekliği görülmez; ancak genelde mikst tip ile karşılaştığımız için yolk sac tümörünün eşlik ettiği GHT'lerde AFP yüksekliği de eşlik edebilir. İleri evre hastalıkta LDH yüksekliği görülebilir. Makroskopik olarak sınırları net olarak ortaya konulamayan, soluk renkli, içerisinde kanama ve nekrotik alanların olduğu invaziv kitlelerdir. EK bazofilik boyanır, belirgin çekirdekçikli ve büyük çekirdeklidir. Retroperitonel lenf nodu tutulumu gözlenebilir ve bu tutulum özellikle mikst tip GHT'deki EK oranı ile ilişkilidir. Pür EK, mikst tip GHT'den daha agresif seyreder (50,51).

Yolk Sac Tümörü: Üç yaşın altındaki çocuklarda en sık görülen testis tümörü olup pür yolk sac tümörü veya mikst tip GHT şeklinde görülebilir. Çocuk yaş grubunda prognoz oldukça iyi iken erişkinlerde görülen mikst tip GHT'de prognoz genellikle daha kötüdür. Hastalar genellikle 15-40 yaş arasındadır. Erişkin nonseminamatöz germ hücreli tümörlerin (NSGHT) %44'ünü oluştururlar. Hastalar

genellikle ağrısız kitle şikayeti ile başvururlar. Makroskopik olarak genellikle kapsülsüz ancak iyi sınırlı kitlelerdir. Yolk sac tümöründe morfoloji oldukça değişken olup retiküler, papiller, mikrokistik gibi birçok histolojik alt tipi mevcuttur. Yolk sac tümöründe %95-100 oranında serumda AFP yüksekliği saptanır ancak hCG yüksekliği gözlenmez (51,54,55).

Koryokarsinom: Pür formu oldukça nadir görülen bir tümör olan koryokarsinom sıklıkla mikst tip GHT'lerin bir komponenti olarak karşımıza çıkar. Pür formu %1'den az görülürken mikst tip GHT'de koryokarsinom görülme oranı %6,4-17,8 arasındadır. GHT'ler grubu içerisinde en agresif olanıdır. Erken dönemde hematojen metastaz yapıp sıklıkla akciğer ve beyni tutar. Koryokarsinom en sık 3. ve 4. dekatta görülür. Koryokarsinomlar erken metastaz yapma eğiliminde olduklarından hastalar testiküler kitle ile polikliniğe başvurabileceği gibi metastatik semptomlarla da karşımıza çıkabilir. Tümör solid, gri, kanama odakları içeren kitle şeklindedir. Koryokarsinomlu hastalarda serum hCG seviyesi her zaman yüksek olup, mikst tip olmadığı sürece AFP yüksekliği gözlenmez. Metastazlara bağlı olarak hemoptizi, karında kitle görülebilirken hCG yüksekliğine bağlı olarak jinekomasti, tirotoksikoz gibi bulgular izlenebilir (50,51,56).

Teratom: Pür teratom çocuklarda, özellikle en sık 4 yaşın altında gözlenir. Erişkinlerde mikst tip GHT'nin bir komponenti olarak %50 oranında rastlanır. Çocukluk çağında yolk sac tümöründen sonra en sık rastlanan ikinci testiküler tümördür. Erişkinlerde 3. ve 4. dekatta sıktır. Hücre maturasyon ve atipisine göre matür veya immatür olarak ikiye ayrılır. Tümörler genellikle iyi sınırlı, sert, nodüler lezyonlardır. Tümör endoderm, ektoderm veya mezoderm kaynaklı yapılar içerir. Tümörün içeriğine bağlı olarak kıkırdak veya nöroglial dokular görülebilir. Teratomlarda AFP veya hCG yükselmez ancak mikst tip GHT'nin bir parçası ise diğer komponentlere bağlı olarak yükseklik gözlenebilir. Çocuklarda görülen teratom sıklıkla benign seyrederken, erişkinlerde maturasyondan bağımsız genel olarak maligndir (55,57,58). Evre 1 mikst GHT'lerde %16,7 oranında lenf nodu metastazı yapar. Retroperitoneal lenf nodu diseksiyonu (RPLND) yapılan hastalarda eksizyon materyalinde en sık görülen tümör teratom olup genellikle senkron seyreder. Geç dönem nüksler yine en sık teratomda gözlenir (50).

Mikst Germ Hücreli Tümör: Birden fazla farklı komponent içeren GHT'lere mikst GHT'ler denir. Tüm testis kitlelerinin yaklaşık %33'ü mikst tiptir. En sık görülen kombinasyonu %26 oranında EK ve teratom birlikteliğidir. Puberte ve daha genç çocukluk döneminde nadir olarak gözlenir. En sık 30'lu yaşlarda gözlenir. Serumdaki AFP ve hCG yüksekliği tümörün içerdiği komponentlere bağlı olarak yüksek ya da normal olabilir (50-52).

2.2.3.2. Seks kord stromal tümör

Yetişkinlerde görülen testis tümörlerinin %5'inden azını oluşturmaktadır. Genellikle non-fonksiyonel kitlelerdir. Bu tümörler çoğunlukla benign seyirli olmakla birlikte az bir kısmı malign de seyredebilir (50).

Leydig hücreli tümör: En yaygın seks kord stromal tümör olup tüm testis tümörlerinin %1-3'ünü oluşturur. Hastaların çoğu 20-60 yaş arasındadır. Histopatolojik olarak iyi sınırlı, sarı-kahverengi dokudur. Leydig hücreli tümörlü hastalarda androjen üretimi ve sonrasında periferik aromatzasyona bağlı olarak jinekomasti ve libido kaybı gibi bulgular görülebilir. Olguların yaklaşık %90'ı benign seyreder. Tümör çapı, mitotik aktivite gibi malignite kriteri olsa da tek gerçek malignite kriteri metastazdır. Çoğunlukla RT ve KT'ye dirençlidir (59,60).

Sertoli hücreli tümör: Testis tümörlerinin %1'inden azını oluşturan tümörlerdir ve puberte sonrası hemen hemen her yaş grubunda görülebilir. Seks kord stromal tümörler içerisinde leydig hücreli tümörden sonra ikinci sıklıkta görülen tümördür. İyi sınırlı, homojen kitlelerdir. Asemptomatik olabileceği gibi hormonal etkiye bağlı semptomlar da görülebilir. Çoğunlukla benign'dirler. Metastaz yine maligniteyi gösteren tek net kriterdir. RT ve KT sertoli hücreli tümörlerde etkisizdir (50,51,56).

Granüloza hücreli tümör: Nadir görülen ve yavaş büyüme eğilimi gösteren tümör olup östrojen sekresyonunu artırarak jinekomasti yapabilir. Histopatolojik olarak yuvarlak, kapsüllü tümörlerdir. Çoğunlukla benign seyirli'dirler (61,62).

Tekom/Fibrom: Oldukça nadir görülen testiküler kitle olup büyük oranda benign seyirli dirler. Mikroskobik olarak iğsi hücre demetlerinin oluşturduğu storiform yapılar görülür. Metastaz yapan vaka henüz bildirilmemiştir (50,56).

Gonadoblastom: Hem germ hücrelerinden hem de seks kord hücrelerinden oluşan mikst tümörlerdir. Oldukça nadir görülen tümörler olup, çoğunlukla disgenetik gonadlarla ilişkilidirler. Olguların çoğu; fenotipi kadın görünümünde olan bireylerde ortaya çıkar. Bu tümörler sıklıkla 20 yaş altında görülür, bilateral olma oranları %40'larda olup, bilateral tümörü olan hastalarda tedavi bilateral orşiektomidir (50,51,56).

2.2.3.3. Lenfoma

50 yaş üzerinde en sık görülen testis tümörü non-Hodgin lenfomadır. Olguların büyük çoğunluğu 60 yaş üzerinde görülür ve %35 oranında bilateral olma eğilimindedirler. Lenfoma hastalarında diğer testis tümörlerinden farklı olarak ateş, gece terlemesi, kilo kaybı gibi sistemik semptomlar görülebilir. Tedavi, diğer testis tümörlerinde olduğu gibi orşiektomi olup bu hasta grubunda ameliyat sonrası ek tedavi ihtiyaç durumu açısından hematoloji ve onkoloji bölümlerinin de görüşlerinin alınması gerekmektedir (63).

2.2.3.4. Metastazlar

Testise metastaz nadir görülmekle birlikte en sık prostat ve akciğer kanseri ile melanom metastazlarına rastlanır. Genellikle hemotojen yayılım neticesinde olur. Tedavide amaç primer tümöre yöneliktir (50,51).

2.2.4. Evreleme

TT evrelemesinde tümör, lenf nodu, metastaz (TNM) evreleme sistemi kullanılır.

Tablo 4. TNM Evrelemesi (64)

Primer Tümör (T)* *Primer tümörün derecesi genellikle radikal orşiektomi sonrası sınıflandırılır, bu yüzden patolojik evredir. Eğer orşiektomi yapılmadıysa Tx olarak değerlendirilir.	
pTx	Primer tümör değerlendirilemiyor
pT0	Primer tümör bulgusu yok (örneğin testiste histolojik skar)
pTis	İntratübüler germ hücreli neoplazi (karsinoma in situ)
pT1	Tümör testis ve epididime sınırlı, vasküler/lenfatik yayılım yok; tümör tunika albugineaya yayılmış olabilir ancak tunika vaginalise yayılım yok. (3 cm'den küçük tümörler T1a, 3 cm'den büyük tümörler T1b olarak değerlendirilir.)
pT2	Tümör testis ve epididime sınırlı vasküler/lenfatik yayılım var veya tunika albugineayı aşmış ve tunika vaginalis tutulumu mevcut.
pT3	Tümör spermatik korda yayılmıştır. (vasküler/lenfatik yayılım var veya yok)
pT4	Tümör skrotuma yayılmıştır. (vasküler/lenfatik yayılım var veya yok)
Bölgesel Lenf Nodları (N)	
Klinik	
Nx	Bölgesel lenf nodları değerlendirilemiyor
N0	Bölgesel lenf nodlarında metastaz yok
N1	En büyük boyutu 2 cm veya daha az tek lenf nodu veya hiçbirinin en büyük boyutu 2 cm'den büyük olmayan birden çok lenf nodu metastazı
N2	En büyük boyutu 2 ile 5 cm arası tek lenf nodu metastazı veya an az biri 2 cm'den büyük ancak 5 cm'den küçük birden çok lenf nodu metastazı
N3	En büyük çapı 5 cm'den büyük lenf nodu metastazı
Patolojik (pN)	
pNx	Bölgesel lenf nodları değerlendirilemiyor
pN0	Bölgesel lenf nodlarında metastaz yok
pN1	En büyük boyutu 2 cm veya daha küçük ve 5 veya daha az sayıda hiçbirinin en büyük boyutu 2 cm'den fazla olmayan lenf nodu metastazı
pN2	En büyük boyutu 2 cm'den büyük ancak 5 cm'den küçük veya hiçbirisi 5 cm'den büyük olmayan 5 adetden daha fazla sayıda lenf nodu metastazı veya tümörün lenf nodu dışına uzanım gösterdiğine dair bulgu olması
pN3	En büyük boyutu 5 cm'den büyük lenf nodu metastazı
Uzak Metastaz (M)	
M0	Uzak metastaz yok
M1	Uzak metastaz var
M1a	Bölgesel olmayan lenf düğümleri yada akciğer metastazı
M1b	Diğer bölgeler
Serum tümör Belirteçleri (S)	
Sx	Serum tümör belirteci sonuçları elde yok veya çalışılmamış
S0	Serum tümör belirteçleri normal sınırlarda
S1	LDH (U/l) < 1.5 x N ve, β-hCG (mIU/ml) < 5.000 ve, AFP (ng/ml) < 1.000
S2	LDH (U/l) 1.5-10 x N veya, β-hCG (mIU/ml) 5.000- 50.000 veya, AFP (ng/ml) 1.000-10.000
S3	LDH (U/l) >10 x N veya, β-hCG (mIU/ml) > 50.000 veya, AFP (ng/ml) >10.000

Amerikan Birleşik Kanser Komitesi (AJCC) tarafından bir diğer evreleme sistemi kullanılır. Bu evreleme sistemine göre evre 1’de tümör testis ve epididimde sınırlıdır. Evre 2’de hastalardan bölgesel lenf nodu metastazı olanlar, evre 3’de ise bölgesel olmayan lenf nodları ile visseral metastaz bulunan hastalar yer almaktadır (65).

Testis tümörlü hastalarda bir takım bağımsız prognostik faktörler mevcuttur. Bu faktörlerin bulunuşu kötü prognoza işaret eder.

Seminomlar için; rete testis invazyonu ve tümör çapının 4 santimetreden büyük oluşu kötü prognoza işaret ederken, NSGHT’ler için; tümör içinde veya peritümöral lenfatik veya vasküler yayılım varlığı, proliferasyon oranının %70’den büyük oluşu, tümör içindeki embriyonel karsinom oranının %50’den fazla oluşu kötü prognoz göstergesidir (65).

Metastatik TT’lü hastalar için International Germ Cell Cancer Collaborative Group (IGCCCG) tarafından oluşturulan prognostik gruplara göre bir sınıflama mevcut olup, metastatik hastalık tedavi rejimleri düzenlenirken bu grupta dikkate alınmaktadır (66).

Tablo 5. AJCC'ye göre Tümör Evreleri (65)

AJCC'ye göre Tümör Evreleri				
Grup	T	N	M	S (serum tümör belirteçleri)
Evre 0	pTis	N0	M0	S0
Evre I	pT1-4	N0	M0	Sx
Evre IA	pT1	N0	M0	Sx
Evre IB	pT2	N0	M0	S0
	pT3	N0	M0	S0
	pT4	N0	M0	S0
Evre IS	Herhangi pT/Tx	N0	M0	S1-3
Evre II	Herhangi pT/Tx	N1-3	M0	Sx
Evre IIA	Herhangi pT/Tx	N1	M0	S0
	Herhangi pT/Tx	N1	M0	S1
Evre IIB	Herhangi pT/Tx	N2	M0	S0
	Herhangi pT/Tx	N2	M0	S1
Evre IIC	Herhangi pT/Tx	N3	M0	S0
	Herhangi pT/Tx	N3	M0	S1
Evre III	Herhangi pT/Tx	Herhangi N	M1	Sx
Evre IIIA	Herhangi pT/Tx	Herhangi N	M1a	S0
	Herhangi pT/Tx	Herhangi N	M1a	S1
Evre IIIB	Herhangi pT/Tx	N1-3	M0	S2
	Herhangi pT/Tx	Herhangi N	M1a	S2
Evre IIIC	Herhangi pT/Tx	N1-3	M0	S3
	Herhangi pT/Tx	Herhangi N	M1a	S3
	Herhangi pT/Tx	Herhangi N	M1b	Herhangi S

Tablo 6. Metastatik testis tümöründe International Germ Cell Cancer Collaborative Group sınıflaması (66)

Risk Sınıfı	Seminom	Nonseminom
İyi Prognoz	Herhangi bir primer yerleşim alanı ve Akciğer dışı organ tutulumu yok ve Normal AFP Herhangi bir β -hCG değeri Herhangi bir LDH değeri	Testis veya retroperitoneal primer tümör ve Akciğer dışı organ tutulumu yok ve Post-orşiektomi serum tümör belirteçleri-aşağıdakilerin hepsi; AFP < 1.000 ng/ml β - hCG < 5.000 IU/l LDH<1.5 x normal üst sınırının
Orta Prognoz	Herhangi bir primer yerleşim alanı ve Akciğer dışı organ metastazı var ve Normal AFP Herhangi bir β -hCG değeri Herhangi bir LDH değeri	Testis veya retroperitoneal primer tümör ve Akciğer dışı organ tutulumu yok ve Post-orşiektomi serum tümör belirteçleri-aşağıdakilerin herhangi biri; AFP < 1.000-10.000 ng/ml β -hCG < 5.000-50.000 IU/l LDH<1.5-10 x normal üst sınırının
Kötü Prognoz	Hiçbir seminom kötü prognosislu olarak sınıflandırılmamıştır.	Mediastinal primer tümör veya Akciğer dışı organ metastazı var veya Post-orşiektomi serum tümör belirteçleri-aşağıdakilerin herhangi biri; AFP > 10.000 ng/ml β -hCG > 50.000 IU/l LDH> 10 x normal üst sınırı

2.2.5. Tedavi

TT tedavisi; tümörün cinsi, serum belirteçleri, hastalığın evresi, doktor ve hastaların tercihlerine göre çeşitlenir. TT, metastaz gelişmesine rağmen çoğunlukla tedavi edilebilen kanserlerdir. Tedavi diğer tümörlerin çoğunda olduğu gibi cerrahi, KT, RT gibi rejimleri içerir (67,68). RT’de amaç kanserli hücrelerin büyümesini durdurmak ve hücre yapılarına zarar vermektir. KT genelde metastatik ya da metastaz yapma potansiyeli olan hastalarda kullanılır. En sık kullanılan KT rejimi bleomisin, etoposid, sisplatin (BEP) kombinasyonudur. Paklitaksel, ifosfomid, sisplatin (TIP) kombinasyonu ve vinblastin, ifosfomid ve sisplatin (VeIP) kombinasyonu da kullanılabilir. TT olan bir hastada ilk yapılması gereken tedavi istisnai durumlar dışında inguinal orşiektomidir. TT tedavisi hastalığın evre ve risk faktörlerine göre belirlenir (68,69).

Evre I Seminom Tedavisi: Evre I seminomlu hastalarda orşiektomi sonrası tedavi seçeneklerini izlem, RT ve KT oluşturmaktadır. Bu hasta grubunda %15-20 oranında retroperitonda nüks gözlenebilir. Bu nedenle özellikle kötü prognostik faktörlere sahip olanlarda seminomların RT’ye son derece duyarlı olmalarından dolayı paraaortik ve bazı durumlarda eş zamanlı aynı taraf iliak lenf nodlarına 20-24 gray (Gy) RT verilebilir. RT sonrası nüks oranları %1-3'lere gerilemektedir (70-72). Aynı şekilde bu hastalara adjuvant KT de verilebilir. Adjuvant KT ajanı olarak bir ya da iki kür karboplatin tercih edilebilir. Bu hasta grubunda retroperitoneal lenf nodu diseksiyonu nüks ihtimalinin RT’den fazla oluşundan dolayı önerilmemektedir. Evre I seminomlu hastalarda hastalığa özgü sağkalım %99'lara kadar ulaşmaktadır (27,73).

Evre IIA / IIB Seminom Tedavisi: Evre IIA ve IIB seminom hastalarında standart tedavi RT olup, IIA seminomda 30 Gy, IIB seminomda 36 Gy dozunda RT verilmesi önerilmektedir. RT paraaortik ve ipsilateral iliak lenf nodlarına uygulanmaktadır. Bu hasta grubunda 3 kür BEP ya da 4 kür etoposid, sisplatin (EP) verilebilir. Genel yaklaşım IIA için RT, IIB için KT şeklindedir. Evre IIA için sağkalım yaklaşık olarak %100'lere ulaşmakla birlikte orşiektomi sonrası izlem önerilmeyip KT ya da RT gibi tedavi modalitelerinden biri önerilmektedir (27).

Evre IIC / III Seminom Tedavisi: Evre IIC ve evre III seminomlu hastalar iyi ya da orta risk grubunda olma durumlarına göre tedavi edilirler. İyi risk grubundaki hastalar 3 kür BEP ya da 4 kür EP tedavisi alırken orta risk grubundaki hastalara 4 kür BEP veya etoposid, ifosfomid, sisplatin (VIP) KT'si verilir (27).

Evre IA / IB Non-Seminom Tedavisi: Evre I NSGHT'li hastalarda nüks oranı %28 olup, genellikle ilk bir yıl içerisinde nüks etme eğilimindedirler. İki yıl sonrasında gelişen nüksler geç rekürrens olarak kabul edilmekte olup, bu rekürrenslerin görülme oranı %2'dir. Özellikle evre IA NSGHT'lü hastalarda izlem bir seçenek olup takiplerinde retroperitoneal kaynaklı bir nüks olması durumunda RPLND ile tedavi edilebilir. RPLND sonrası patolojide tümör saptanmaz ise hastalar izleme alınmakta ve tümör saptanması durumunda hastalar adjuvan BEP tedavisi almaktadır (74). Evre IB NSGHT'li hastalarda ise temel tedavi RPLND ya da BEP tedavisi olup seçilmiş küçük bir gruba aktif izlem de yapılabilmektedir (27).

Evre IIA / IIB Tedavisi: Evre IIA ve IIB hasta grubunda orşiektomi sonrası tedavinin düzenlenmesi için tümörün evresi, serum tümör belirteç düzeyi ve radyografik bulgular değerlendirilmektedir. Orşiektomi sonrası serum AFP ve hCG değerleri yüksek olan hastalarda daha yüksek oranda nüks gözlenmektedir. Bu hasta grubunda indüksiyon KT rejimleri denenmektedir (27,75).

Genel yaklaşım retroperitoneal lenf nodu metastazı olan NSGHT'li hastalarda RPLND planlanması olup, RPLND'ye KT eklenmesi de bir diğer seçenektir. Primer olarak RPLND yapılan hastaların patoloji preparatlarında tümöre rastlanmaması durumunda izlem tercih edilmekteyken, eksize edilen lenf nodlarında tümör saptanması durumunda BEP tedavisi verilmesi önerilmektedir. Orşiektomi sonrası primer tedavi olarak KT verilen NSGHT'li hastaların takiplerinde de aynı şekilde radyografik bulgular ve serum tümör belirteçlerinden yararlanılır (27,76,77). Orşiektomi sonrası tedavi olarak KT verilen ya da RPLND yapılan evre IIA ve evre IIB NSGHT'li hastalarda nüksüz sağ kalım %98'lere ulaşmaktadır (78,79).

Evre IIC / III Tedavisi: İleri evre metastatik NSGHT'li hastalarda 3 ya da 4 kür BEP sonrası retroperitoneal tümör görülme oranı %30 olup bu durumun

muhtemel sebebi tümör yükünün fazla olması ya da tümör içerisinde teratom gibi KT'ye dirençli komponentlerin bulunmasıdır (80).

İleri evre metastatik NSGHT'li hastalarda tedavi yöntemi IGCCCG'ye göre hangi prognoz grubunda olduğuna bakılarak belirlenmektedir. İyi prognozlu grupta temel tedavi 3 kür BEP ya da 4 kür EP, orta prognozlu grupta 4 kür BEP verilmektedir. Kötü prognozlu gruptaki hastalar 4 kür BEP ya da 4 kür VIP ile tedavi edilir. VIP, BEP'e göre daha toksik olmasına rağmen bleomisini tolere edemeyen hastalarda kullanılmaktadır (27,81).

Eskiden elde edilen verilerde sağkalım oranları biraz daha düşük olsa da yapılan güncel çalışmalar ile 5 yıllık genel sağkalım oranları iyi, orta ve kötü prognozlu gruptaki hastalar için sırasıyla %94,% 83 ve %71 olarak bildirilmiştir (82).

2.3. SİSPLATİN

Sisplatin, cis-diamminedichloroplatinum-II olarak bilinen sık kullanılan bir kemoterapötik bir ilaçtır. Sisplatin testis, mesane, akciğer, serviks, baş-boyun, over, küçük hücreli akciğer kanserlerinde seçilebilecek kemoterapötik ajanların başında gelmektedir (1,2,4,83). Oda şartları altında beyaz, turuncu veya sarı renk tonlarında bulunabilir ve suda az olarak çözünabilir (1). Sisplatinin moleküler yapısı merkezde iki değerlikli platin ve bu atoma bağlı 2 amonyum ve 2 klor bağı içeren yapıdır, molekülün formülü $Cl_2H_6N_2Pt$ 'dir (2). Moleküler ağırlığı 301,1 gr/mol'dür (1). Dansitesi 3,74 gr/cm³ iken, erime sıcaklığı 270⁰'dir (1). Cis- ve Trans- olmak üzere iki farklı izomere sahiptir. Sabit sıcaklık ve basınç altında sitotoksik etkili olan cis-formunda sebat ederken, zaman içerisinde yavaş yavaş trans-formasyonuna dönüşebilir (1,2). Amerikan Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) tarafından onaylanmış bir KT ajanıdır.

Sisplatin ilk olarak 1844 yılında M. Peyrone tarafınca bulunmuş, 1893 yılında A. Werner tarafından kimyasal yapısı çözümlenmiştir. Ancak 1960'ların ortasına kadar önemi bilinmemiştir. Bu dönemde Rosenberg ve arkadaşlarının yaptıkları

çalışmada sisplatin içeren bantların Escherichia Coli bakterilerinin bölünmesini durdurduğunu gözlemlenmiştir (1,2).

Hücre metabolizması ve bölünme yeteneği yüksek olan hücrelere daha fazla olmak üzere sisplatin tüm vücut hücrelerine etki edebilmektedir (84). Hücre siklusundan bağımsız olarak hücreyi her dönemde etkileyebilir. Sisplatinin oral biyoyararlanımı yüksek olmamasından dolayı intravenöz (IV) veya intraperitoneal (IP) olarak uygulanabilmektedir (2).

Alkilleyici özelliği olan sisplatin hücre içerisine difüzyon yoluyla girer ve hücre çekirdeğinden içeri girerek DNA üzerindeki pürin bazlarına kovalent bağlanarak DNA'nın transkripsiyonunu önler ve DNA adduct denilen yapıyı oluşturur (85). DNA'nın çift sarmal yapısını bozarak hücreyi nekroz ve apoptoza sürükler (2,84). Bu etkisi ile diğer kemoterapötik maddeler ile sinerjik aktivite gösterir. Ayrıca mitokondri içerisine de girerek mitokondri DNA'sını bozar, mitokondri içerisinde sülfidril grup azalmasına neden olur, mitokondrial kalsiyum alımını inhibe eder ve mitokondrial membran potansiyelini bozar; bu durum mitokondrideki ATP kullanımını durdurur (86).

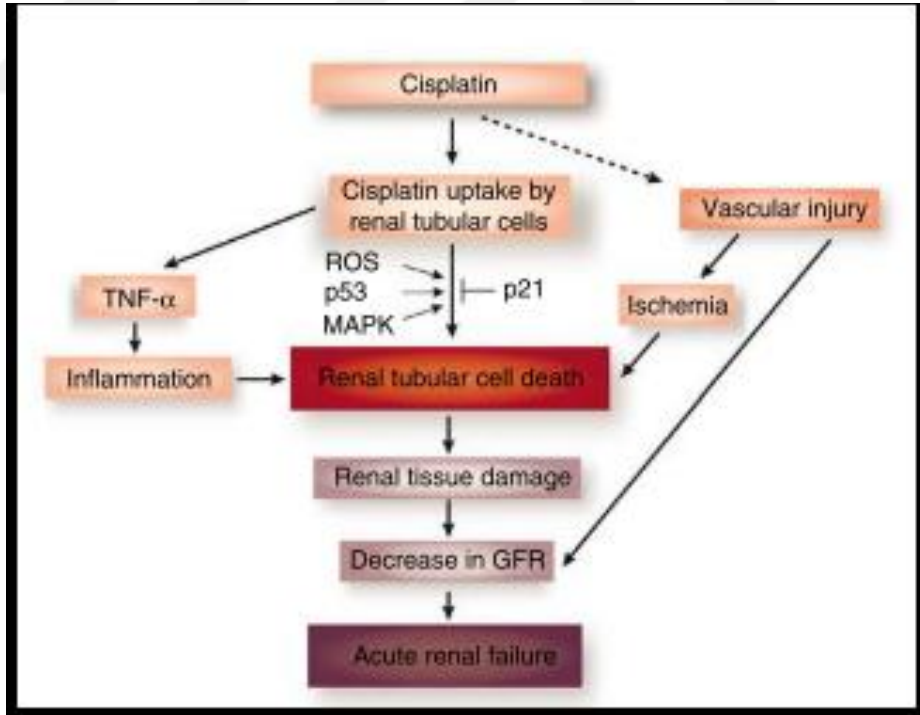
Normal fizyolojik koşullar altında hücre içinde oluşan süperoksit radikalleri hücre içi glutatyon (GSH), süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz (CAT) ile dengelenmektedir. Oksidatif koşullar altında dengelenme sistemi yetersiz kalmaktadır. Sisplatin diğer etkisini ise hücre içersindeki süperoksit radikallerindeki artış ile oluşturur. Bu durum hücre içinde protein sekestrasyonuna, lipid peroksidasyonuna ve DNA normal sarmal yapısının bozulmasına neden olur (87).

Sisplatin oksidatif stres üzerindeki bu etkileri ile hücre içerisinde hem intrinsik hem de ekstrinsik yollar aracılığıyla metabolik aktivitesi yüksek olan hücrelerde apoptoz ve otofajiye neden olurken, normal hücrelerde normal fizyolojik fonksiyonların bozulmasına neden olabilmektedir.

Sisplatinin hepatoksisite, ototoksisite, nefrotoksisite, gastrotoksisite, kardiyotoksisite, myelosupresyon ve alerjik reaksiyonlar gibi yan etkileri mevcuttur (83,87). Tedavi sırasında bunların gelişimi doz sınırlamasına ve KT protokolünün

değişimine neden olmaktadır. Bu duruma en sık neden olan durum ise nefrotoksisitedir.

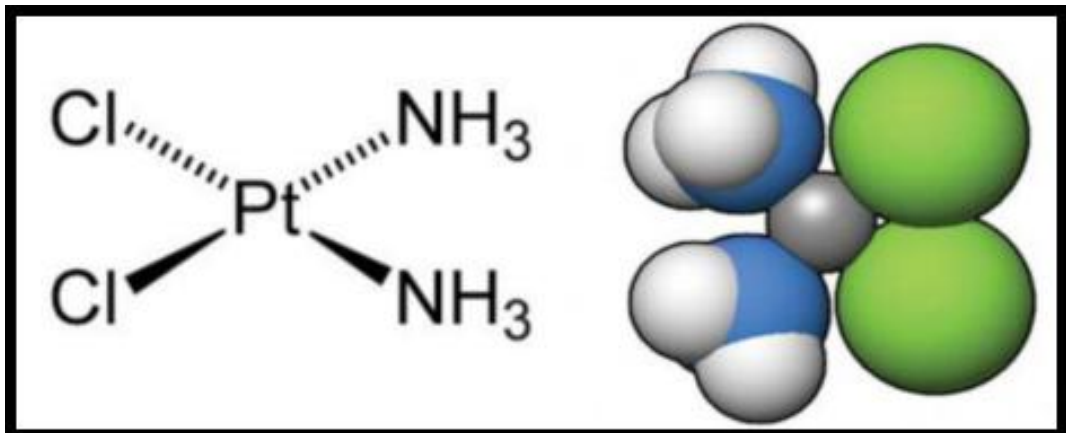
Sisplatin vücuttan böbrekler aracılığıyla atılır; bu nedenle böbreklerde diğer organlara nazaran daha fazla biriktiği gözlenmiştir. Böbreklerden atılımı glomerüler filtrasyonla ve az miktarda sekresyonla olmaktadır. Böbrek proksimal tübüllerinde vücuttaki dokulara oranla 5 kat daha fazla bulunur. Yarı ömrü 60 saat olan sisplatinin ilaç uygulanmasından sonraki ilk 3 saat içerisinde böbrek kanlanması bozulurken asıl etki yaklaşık 10 gün sonra izlenir (87). 2-3 gün sonrasında proksimal ve distal tübüllerdeki sodyum (Na) ve su geri Emilimi bozulur (distal renal tübüler asidoz). Bu durum idrar konsantrasyonunda bozulma ve en sonunda poliüriye neden olur. Ayrıca hipokalsemi ve hipomagnezemi yapar (84). Böbrek tübül hücrelerinde artmış reaktif oksijen radikallerine bağlı olarak nekroz, apoptoza neden olur (86,88). Oluşan apoptotik hücrelerin tübül içerisinde sediment oluşturduğu gözlenmektedir.



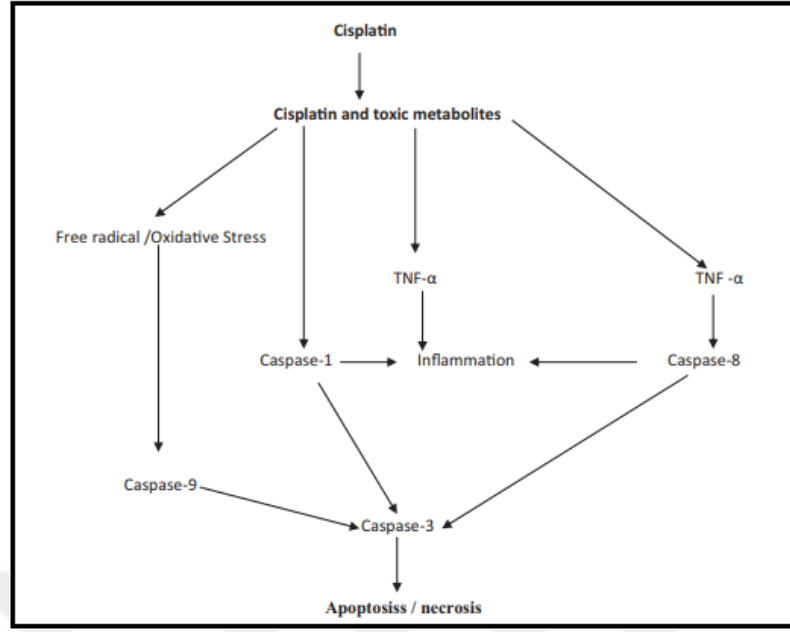
Şekil 6. Sisplatinin nefrotoksiste üzerinde olan etkisi (87)

Sisplatinin ototoksosite etkisi geri dönüşüz olarak hem kohlea'yı hem de vestibül'ü etkiler. Bu nedenle hem işitme kaybı hem de denge kaybına neden olur. Bu etki doz bağımlı olarak gerçekleşirken bu kemoterapötik ajan etkisini en çok orta kulakta kohlea'nın dış tüy hücrelerini etkileyerek yapar. İşitme kaybı ilk önce yüksek frekansta başlarken doz bağımlı olarak düşük frekanslarda kayba kadar ilerleyebilir. Sisplatinin ototoksosite etkisinin artmış serbest oksijen radikallerine bağılı olduğu düşünülmektedir (84,89).

Sisplatin'in testis üzerinde dejeneratif etkileri doz bağımlı olarak görülmektedir. Bu etkilerini hem spermiyogenezde bulunan germ hücrelerinin DNA ve kromatin yapısını bozarak hem de testis içindeki hücrelerde reaktif oksijen radikallerini artırarak yapar. Verildiği andan itibaren 24 saat içerisinde sertoli hücrelerini etkileyerek spermiyogenez sırasında germ hücrelerinin ihtiyacı olduğu beslenme, korunma, artık maddelerin fagositoz işlevini bozar. Vücuttaki stereidogenezi azaltarak FSH, LH seviyelerini azaltır ve leydig hücrelerini üzerine etki ederek serumda testosteron seviyesini düşürür. Tip A spermatogonyumların rejenerasyon kabiliyetini bozarak ve apoptoza girmesine neden olur. Geri dönüşümlü veya geri dönüşümsüz spermiyogenezin devamlılığını bozar. Sonuç olarak sisplatin testis ağırlığında azalmaya, normal sperm morfolojisinde, sperm sayısında, sperm kromatin kalitesinde azalmaya ve serumdaki serbest ve ABP'ye bağılı bulunan testosteron seviyesinde azalmaya neden olur (6,83,85,90-92).



Şekil 7. Sisplatin molekülü (1)



Şekil 8. Sisplatinin testis toksisitesi etki mekanizması (93)

2.4. TADALAFİL

5-PDI ailesi öncelikli olarak ED tedavisi için kullanılan ilaçlardır. Bu aileden 1998 yılında ilk olarak sildenafil molekülü FDA tarafından onay almış, ardından 2003 yılında tadalafil ve vardenafil FDA'dan onay alarak kullanılmaya başlanmıştır. Ayrıca avanafil, udenafil, lodenafil, mirodenafil gibi moleküller de kullanılmaktadır. Sildenafilin etkisi ilacın alımından itibaren 30-60 dk içinde başlarken etki süresi yaklaşık 8 saattir. Sildenafil kısa etkili bir ajan iken daha uzun etkili olan tadalafilin ise ilk ilaç etkisi ilacın alımından sonra 30 dakika sonra başlarken, etkisi 36 saate kadar sürer (94).

Normal ereksiyon fizyolojisinde penisteki sinir ucundan nitrik oksit (NO) salgılanır. Korpus kavernosum kas tabakası içerisine geçen NO kas hücresinde guanilat siklaz enzimini aktive eder ve siklik guanozin monofosfat (cGMP) hücre içerisinde oluşur. Hücre içerisindeki cGMP birçok fosforilasyon kaskadını aktive eder ve hücre içerisinden dışarıya kalsiyum iyonu (Ca^{++}) atılımı gerçekleşir. Ca^{++} düşüklüğü penisteki düz kas hücrelerinde gevşemeye neden olur ve vazodilatasyon gerçekleşir. Vazodilatasyon sonrasında corpus cavernosumlar içerisinde kan akımı artışı ve ereksiyon gerçekleşir. Sinirsel uyarım sonlandıktan sonra hücre içerisindeki

cGMP, PDE5 enzimi tarafından yıkılarak 5' guanozin monofosfat (5'-GMP)'ye dönüşüm gerçekleşir. cGMP miktarındaki düşmeye bağlı olarak hücre içerisindeki Ca^{++} miktarı tekrar artarak düz kas hücresinde kasılına neden olur ve vazodilatasyon yani ereksiyon sonlanır. 5-PDI ailesi PDE5 enzimini inhibe ederek vazodilatasyon süresinin uzamasını sağlar (94).

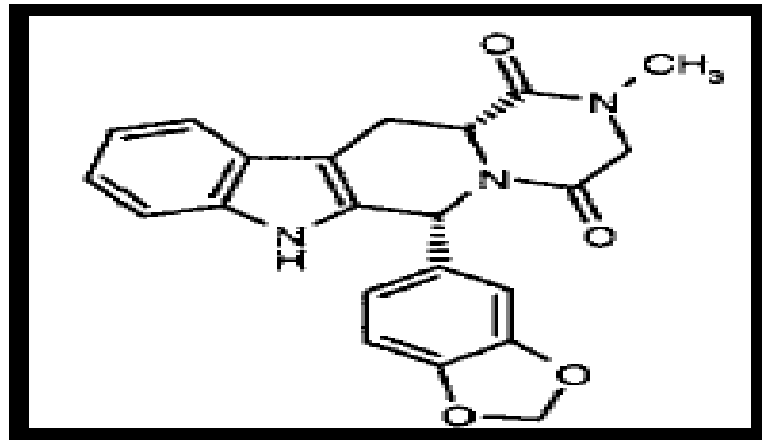
Tadalafil ile 3 aylık tedavi sonrasında %67-81 hastada erektil fonksiyonların düzeldiği gözlenmiştir. 5-PDI ailesinin asıl kullanım alanı ED iken, aynı zamanda pulmoner hipertansiyon, kontrast nefropatisi ve benign prostat hiperplazisi tedavisinde kullanılmaktadır (8,95-97). Aynı zamanda bu aile içerisindeki sildenafilin ve tadalafilin antioksidan, anti-apoptotik etkileri de gösterilmiştir (9,10,98). Testis torsiyonu nedeni ile başvuran hastalarda yapılan detorsiyon ile hastada oluşan iskemi-reperfüzyona bağlı oluşan oksidatif strese korunma amacıyla tadalafil tedavisi verilen hastalarda sperm kalitesinde artma olduğu gözlenmiştir (99). Düzenli kullanımda ise kavernozal arterlerde dilatasyon olduğu görülmüş ve bu amaçla penil rehabilitasyon tedavisinde kullanılmıştır (94). Radikal prostatektomi operasyonu geçiren hastalarda cerrahi sonrasında 5-PDI'nin düzenli kullanımının penis düz kas sayısındaki azalmayı önlediği ve penisteki fibrozisin azaldığı gösterilmiştir (94).

Tadalafilin belirtilen etkilerini selektif PDE-5 inhibisyonuna bağlı olarak sağlamaktadır (9). Tadalafil ek olarak PDE-11 inhibisyonuna da neden olmaktadır. PDE-11 reseptörleri vücutta testis haricinde kalp ve iskelet kasında, iç organların damarlarının düz kasında, prostat bezinde ve gelişmekte olan germ hücrelerinde fazla sayıda bulunmaktadır (100,101). Tadalafilin kronik kullanımında sperm motilitesinin azalmasını önlemek dışında, sperm morfolojisini, sperm sayısını ve konsantrasyonunu, serum FSH, LH ve testosteron düzeyini etkilemediği ve PDE-11 inhibisyonunun spermiyogenez üzerinde etkili olmadığı anlaşılmıştır (100). Diğer yandan kronik tadalafil kullanımının sperm parametrelerini bozduğunu ve testis boyutlarını azalttığını gösteren çalışmalar da mevcuttur (100-102).

Tadalafil vücutta karaciğerde CYP3A4 enzimi ile yıkılmaktadır. Bu nedenle bilinen karaciğer hastalığı durumlarında, CYP3A4 enzimini inhibe eden ketakonazol, itrakonazol ve CYP3A4 enzimini indükleyen rifampin, fenobarbital, fenitoin,

karbamazepin gibi medikal tedavi kullanan hastalara özel olarak doz ayarlanması gerekmektedir (94).

Tadalafil kullanıma bağlı sık görülen yan etkiler baş ağrısı, yüzde kızarma, dispepsi, baş dönmesi ve böbrek fonksiyonunda kısıtlılık olan hastalarda miyalji'dir. En sık görülen yan etkisi ise geçici olan baş ağrısıdır. Tadalafil kullanımından sonraki 48 saat içerisinde EEG değişiklikleri gözlenmiştir. Baş ağrısının nedeni serebral vasküler damarlardaki vazokonstriktif yanıt azalması olarak düşünülmüştür (103).



Şekil 9. Tadalafil molekülü (100)

Tablo 7. Tadalafil ve diğer 5PDEi farmokinetiği (104)

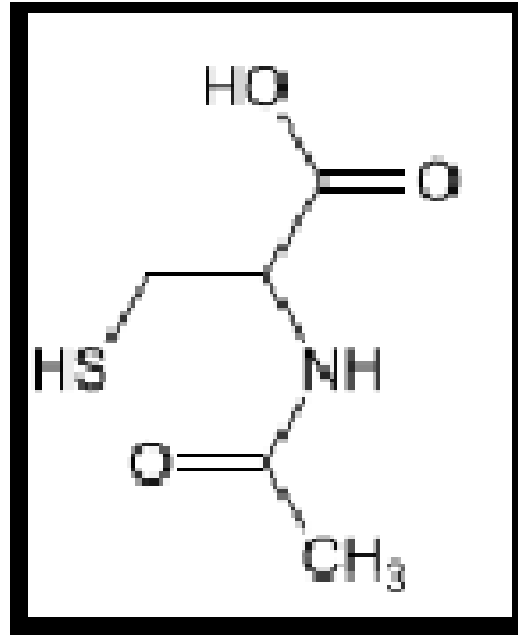
	Sildenafil (film-coated tablets)	Vardenafil (film-coated tablets)	Tadalafil (film-coated tablets)	Avanafil (film-coated tablets)
T _{max} (min), median	45–60 min ^b	45–60 min ^c	120 min	30–45 min
Effect of food on T _{max} (min)	Mean delay in T _{max} of about 60 min (high-fat meal)	None (low-fat meal) mean delay in T _{max} of about 60 min (high-fat meal)	None	Mean delay in T _{max} of about 75 min (high-fat meal)
T _{1/2} (h)	3–5 h	4–5 h	17.5 h	5–10 h
Metabolism	Hepatic (primarily by the CYP3A4 and to a minor extent, by the CYP2C9)	Hepatic (primarily by the CYP3A4 with contribution from the CYP3A5 and CYP2C)	Hepatic (primarily by the CYP3A4)	Hepatic (CYP3A4, principal route, and CYP2C9, secondary route)
Main PDE targeted	PDE5	PDE5	PDE5	PDE5
Secondary PDE target	PDE6 (10-times lower specificity)	PDE6 (15-times lower specificity)	PDE11A (controversial)	PDE6 (100-times lower specificity)
Very common adverse effects (>10%)	Headache	Headache	None	None
Common adverse effects (<10%, >1%)	Dizziness Abnormal vision Flushing Nasal congestion Nausea Dyspepsia	Dizziness Flushing Nasal congestion Dyspepsia	Headache Flushing Nasal congestion Dyspepsia Back pain Myalgia Pain in extremity	Headache Flushing Nasal congestion

2.5. N-ASETİL SİSTEİN

NAS, doğada L-sistein aminoasidinin asetillenmiş türevidir. Özellikle soğanda daha çok olmak üzere bitkilerde bol miktarda bulunmaktadır. 1960'lı yıllarda mukolitik ajan olarak kullanılmaya başlanan NAS'ın, sonraki yıllarda antioksidatif, antifibrotik özellikleri gösterilmiştir. Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) antioksidan madde listesinde bulunmaktadır (105).

NAS molekülü daha önce iskemi-reperfüzyon hasarı, steatohepatit, parasetamol zehirlenmesi, kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOA), kistik fibrozis, kronik bronşit, civa zehirlenmesi, diabetik retinopati ve hipertansiyon, katarakt, kuru göz gibi hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır (105-107). Antioksidan olarak geniş kullanım alanı olan NAS'ın antioksidan mekanizması tam net olarak anlaşılamamakla beraber etkinin L-sistein aminoasidinin üzerindeki tiyol grubu (-SH) ile sağlandığı düşünülmektedir (108). Ayrıca sistein vücutta redüklenmiş glutatyon prekürsörü olarak bulunmaktadır (11). NAS'ın antioksidatif etkisine ek olarak transforming growth factor- β (TGF- β) yolağı üzerinden antifibrotik ve anti-proliferatif etkilerini gösterdiğini ve bu nedenle idiyopatik akciğer hastalığı ve sistit gibi hastalıklarda fibrozis oluşmunda önleyici olarak kullanıldığı da bilinmektedir (108-110).

NAS günümüzde kolayca ulaşılabilen ucuz bir ilaçtır. NAS'ın çok nadir olmakla beraber bilinen bazı yan etkileri mevcuttur. Bunlar bulantı-kusma, mide ağrısı, döküntü, anjioödemdir. Normal glikoz-6-fosfat dehidrogenaz enzim seviyesine sahip insanlarda kısa süre içerisinde aşırı alınması durumunda ise hemoliz, trombositopeni, akut böbrek yetmezliği ve ölüm gibi durumlar görülebilmektedir (108,111,112).



Şekil 10. NAS molekülü (108)

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Sağlık Bilimleri Üniversitesi Dışkapı Yıldırım Beyazıt Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi Bilimsel Çalışmaları Destekleme Projesi'nden onay alınarak çalışma desteklenmiştir (Karar Tarihi: 17.10.2019, Karar No: 74/02).

3.1. DENEY HAYVANLARI

Bu çalışmanın yapılabilmesi için KOBAY Deney Hayvanları Laboratuvarı'ndan yerel etik kurulu onayı alındı (Onay Tarihi: 23.09.2019, Onay numarası 403). Çalışma için 40 adet 10-12 haftalık, 250-300 gr, erkek, Wistar Albino rat kullanıldı (KOBAY DHL A.Ş, Türkiye). Çalışmada tüm ratlar; $22\pm 2^{\circ}\text{C}$ 'de, uygun nemde ve sıcaklıkta, 12 saatlik ışık-karanlık siklusu olan odalarda tutuldu ve yeterli miktarda gıda ve suya ulaşmaları (ad libitum) sağlandı.

Kafeslerdeki talaşlarda kavak ağacı (Tapvei, Estonya) kullanıldı. Ratların yemlerinde VRF1 yemi (SDS diets, İngiltere) kullanıldı. Yemin besin değerleri aşağıda verilmiştir.

Tablo 8. Yem Besin içeriği

Ham Yağ	% 4,50
Ham Protein	% 18,50
Ham Lif	% 4,20
Ham Kül	% 7,00
Lizin	% 1,00
Metionin	% 0,42
Kalsiyum	% 1,00
Fosfor	% 0,60
Sodyum	% 0,25
Magnezyum	% 0,20
Bakır	20 mg/kg

3.2. DENEY GRUPLARI

Çalışma 5 grup olarak planlandı.

1. Kontrol Grubu: Ratlara 14 gün boyunca günde 1 kere i.p. salin solüsyonu verildi.
2. Grup 1: Ratlara 14 gün boyunca günde 1 kere i.p salin solüsyonu verildi. Çalışmanın 8. gününde tek doz 7,5 mg/kg sisplatin tedavisi i.p olarak uygulandı.
3. Grup 2: Ratlara 14 gün boyunca günde 1 kere oral olarak 1,8 mg/kg/gün tadalafil verildi. Çalışmanın 8. gününde tek doz 7,5mg/kg sisplatin tedavisi i.p olarak uygulandı.
4. Grup 3: Ratlara 14 gün boyunca günde 1 kere 50 mg/kg/gün NAS i.p olarak verildi. Çalışmanın 8. gününde tek doz 7,5mg/kg sisplatin tedavisi i.p olarak uygulandı.
5. Grup 4: Ratlara 14 gün boyunca günde 1 kere oral olarak 1,8 mg/kg/gün tadalafil ve günde 1 kere 50 mg/kg/gün NAS i.p olarak verildi. Çalışmanın 8. gününde tek doz 7,5mg/kg sisplatin tedavisi i.p olarak uygulandı.

Çalışma tasarımı ARRIVE 2.0 kılavuzuna uygun olarak belirlendi (113). Ratlar European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes (ETS 123) standartlarına uyularak takip edildi ve çalışma protokolleri uygulandı. Gruplara belirlenen protokoller çerçevesinde 14 gün süresince salin, tadalafil (Lifta, Abdi İbrahim İlaç, Türkiye), NAS (Asist, Bilim İlaç, Türkiye) tedavileri verildi. Grup 1-4'te ratlara 8.günde tek doz sisplatin (Cisplatin, Koçak Farma, Türkiye) tedavisi verildi. Son tedavi dozundan 24 saat sonra intramuskuler (IM) 50mg/kg ketoprofen (Ketosol, İnterchemie Werken, Hollanda), 5 mg/kg xylazinum (Xylazinbio, Bioveta, Çek Cumhuriyeti) uygulanarak ratlarda genel anestezi oluşturuldu. Ardından intrakardiyak kan alınarak ötenazi uygulandı. Alınan intrakardiyak kandan serum testosteron ölçülmesi amaçlandı. Çalışmanın başlangıcında, sisplatin tedavisi verildiği günde ve çalışma sonunda ratların vücut ağırlıkları ölçüldü. Ratların testisleri eksize edilerek boyutları ve ıslak ağırlıkları ölçüldükten sonra ratların sağ testisleri ışık mikroskopisi ve

immunhistokimyasal değerlendirilme amacıyla formolin solüsyonuna konuldu. Sol testisleri doku malonildialdehit (MDA) ölçülmesi amacıyla -80°C’de saklandı.

Çalışma sırasında 3. grupta 1 adet rat 6.gün ve 1 adet 7. Gün exitus oldu. Çalışma sırasında exitus olan ratların yerine başka rat eklenmedi.



Şekil 11. Ratların çalışma sırasında bulundukları oda koşulları ve kafesleri



Şekil 12. Ratlara i.p NAS verilmesi



Şekil 13. Ratlara NG ile tadalafil solüsyonu verilmesi



Şekil 14. Ratlara IM olarak anestezik madde verilmesi



Şekil 15. Ratlardan intrakardiak kan alınması



Şekil 16. Ratların skrotal eksplorasyon ve testis eksizyonu

3.3. IŞIK MİKROSKOBİK İNCELEME VE HİSTOLOJİK BULGULAR

Çalışma sonrasında ratlardan alınan sağ testislerin ıslak ağırlıkları ve boyutları ölçüldükten sonra %10'luk formalin solüsyonunda 24 saat fikse edildi. Rutin doku takibi işlemi sonrasında hazırlanan parafin bloklardan 4 mikron (μm) kalınlığında kesitler alındı. Hazırlanan kesitler hematoksilin-eozin (H&E) (Merck, Almanya) ile boyandı. Kesitler Nikon Eclipse mikroskopi cihazı (Nikon Corporation, Japonya) ile incelendi. Her kesitte 100 adet seminifer tübül incelendi. Testislerden Cosentino skorlaması ve modifiye Johnsen skorlaması yapıldı (10,99). Kesit resimleri Olympus LC Mikro fotoğraf makinesi ile (Olympus, Japonya) ile fotoğraflandırıldı.

3.4. İMMUNHİSTOKİMYASAL İNCELEME

Çalışma sonrasında ratlardan alınan sağ testislerin ıslak ağırlıkları ve boyutları ölçüldükten sonra %10'luk formalin solüsyonunda 24 saat fikse edildi. Rutin doku takibi işlemi sonrasında hazırlanan parafin bloklardan 4 mikron (μm) kalınlığında kesitler alındı. Hazırlanan kesitler anti-APAF-1 (ab216410) (Abcam, İngiltere) ile 1/200'lük dilüsyonda Ventana Benchmark XT (Roche Diagnostics, Almanya) cihazı ile boyandı. Kesitler Nikon Eclipse mikroskopi cihazı (Nikon Corporation, Japonya) ile incelendi. Her kesitte 100 adet seminifer tübül incelendi. Apoptotik indeks 100 seminifer tübülde anti-APAF1 antikoru ile boyanan apoptotik hücrelerin sayılıp ortalaması alınarak verildi. Kesitlerin resmi Olympus LC Mikro fotoğraf makinesi ile (Olympus, Japonya) ile fotoğraflandırıldı.

3.5. SERUM TESTOSTERON ÖLÇÜLMESİ

İntrakardiyak olarak ratlardan alınan kanların 3000 devirde 10 dakika santrifüj edilmesinin ardından serumlar toplandı. Toplanan serumlardan total testosteron çalışılmasına kadar geçen sürede serumlar -80°C 'de saklandı. Serum testosteron değerleri Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry (LC-MS/MS) yöntemi ile ölçümleri gerçekleştirildi. LC-MS/MS yöntemi için Thermo TSQ Access Max (Thermo-Fischer Scientific, ABD) cihazı kullanıldı.

Ependorfa serumdan alınan $100\mu\text{L}$ örnek ve $200\mu\text{L}$ çöktürme reaktifi alındı. Ardından vortekste 30 saniye karışması sağlandı. Sonrasında örnek 10 dakika 12.000 rpm 'de santrifüj edildi. $250\mu\text{L}$ süpernatant elde edilerek vialle alındı. $25\mu\text{L}$ süpernatant alınarak LC-MS/MS için cihaza enjekte edildi. Bakılan testosteron sonuçları $\mu\text{g/L}$ olarak değerlendirildi.

3.6. DOKUDA MDA ÖLÇÜLMESİ

Çalışma sonrasında ratlardan alınan sol testislerin ıslak ağırlıkları ve boyutları ölçüldükten sonra testis dokusunda MDA ölçülmesine kadar geçen sürede testisler -80°C’de bekletildi.

Her ratın testisi fosfat tamponlu tuz (PBS) ile yıkandı. Testis dokusu sıvı azot ile öğütüldükten sonra toz haline getirildi. Toz haline gelmiş testis dokusundan 100 mg eppendorf tüpe alındı ve üzerine 1 ml PBS ilave edildi. Daha sonra eppendorftaki karışım Tissue Lyser II (QIAGEN, Almanya) ile 30 Hz ile 3 dakika boyunca homojenize edildi.

Tüm kuyulara standartlar hariç olmak üzere 95 µl saf su ve 5 µl homojenat konuldu. Protein standart solüsyonu 16mg sıgır serum albümin (BSA) 20ml distile suda çözülerek oluşturuldu. 10 dakika boyunca plate çalkalandı. Protein standart solüsyonu ve kör tüpten her kuyuya 100’er µl konuldu. 1 şişe Lowry reaktifi 40ml distile su içerisinde çözündürülerek tüm kuyulara 50 µl konuldu. 20 dakika oda sıcaklığında inkübe edildi. 450 µl Folin&Cocalteu’s fenol reaktifi (Sigma-Aldrich, ABD) 4,75 µl distile su ile karıştırılarak çalışma solüsyonu oluşturuldu. Yapılan çalışma solüsyonundan her kuyuya 50 µl konuldu. 30 dakika oda sıcaklığında inkübasyonun ardından örnekler 750 nm’de spektrofotometrik olarak ölçüldü. İşlem sırasında MDA ELISA kiti (Sunred Chemicals, Çin) kullanıldı. Bakılan doku MDA sonuçları nmol/gr olarak değerlendirildi.

3.7. İSTATİSTİKSEL YÖNTEMLER

Tanımlayıcı analizler yüzde olarak ve sürekli değişkenler için ortalama±standart sapma (SS) ve medyan (minimum-maksimum) değerleri kullanılarak verilmiştir. Değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu görsel (histogram ve olasılık grafikleri) ve analitik yöntemler (Shapiro-Wilk Testi) kullanılarak incelenmiştir. Verilerin tamamının normal dağılım göstermediği tespit edilmiştir. Normal dağılıma uymayan verilerde, ikiden fazla grupların karşılaştırılması Kruskal-Wallis Testi kullanılarak analiz edilmiştir. Kruskal-Wallis testi sonucu anlamlı çıkan

grupların ikili gruplarının değerlendirilmesi Bonferroni düzeltmesi yapılarak Mann-Whitney U testi ile değerlendirilmiştir. Bağımlı değişkenlerin  ve daha fazla tekrarlı lmlerini değerlendirmede Friedman testi yapılmıştır. Friedman testi sonucu anlamlı çıkan tekrarlı lmlerden ikili tekrarlı ölçümleri değerlendirmek için Wilcoxon testi yapılmıştır. Bonferroni düzeltmesiyle beş bağımsız grubun ikili grup değerlendirmesinde istatistiksel olarak anlamlılık düzeyi $p < 0,005$ olarak hesaplanmıştır.  tekrarlı lmn ikili lmlerinin karşılaştırmasında ise bonferroni düzeltmesi ile $p < 0,017$ istatistiksel anlamlı sınır olarak kabul edilmiştir. Sürekli değişkenlerin ilişkilerini değerlendirmek için Spearman korelasyon analizi yapılmıştır. Korelasyon katsayıları (r) 0,0-0,19 “ok zayıf”, 0,20-0,39 “zayıf”, 0,40-0,59 “orta”, 0,60-0,79 “güçlü”, 0,80-1,00 “ok güçlü” olarak değerlendirilmiştir. Bu çalışmada istatistik anlamlılık düzeyi $p < 0.05$ olarak kabul edilmiştir. İstatistiksel değerlendirme Statistical Package for Social Sciences (SPSS) for Windows 25.0 (IBM SPSS Inc., Chicago, IL) programı kullanılarak yapılmıştır.

4. BULGULAR

4.1. VÜCUT AĞIRLIKLARI VE AĞIRLIK DEĞİŞİMLERİ

Çalışmanın başlangıcında kontrol grubunun vücut ağırlığı ortalaması $278,8 \pm 14,3$ gr; sisplatin tedavisi alan grubun vücut ağırlığı 280 ± 12 gr; sisplatin+tadalafil alan grubun vücut ağırlık ortalaması $267 \pm 14,1$ gr; sisplatin+NAS tedavisi alan grubun vücut ağırlığı ortalaması $267,8 \pm 19,6$ gr ve sisplatin+tadalafil+NAS kombinasyon tedavisi alan grubun vücut ağırlığı ortalaması ise $273,8 \pm 17,5$ gr olarak hesaplandı. Çalışmanın başlangıcında rat ağırlıklarında gruplar arasında istatistiksel anlamlı fark saptanmadı ($p=0,296$).

Çalışmanın 8. günü olan tek doz sisplatin tedavisi verildiği günde kontrol grubundaki ratların vücut ağırlığı ortalaması $353,3 \pm 16,9$ gr; sisplatin tedavisi verilen ratların vücut ağırlığı ortalaması $345,3 \pm 19$ gr; sisplatin+tadalafil tedavisi verilen grubun vücut ağırlığı ortalaması $330 \pm 20,6$ gr; sisplatin+NAS tedavisi verilen ratların vücut ağırlığı ortalaması $326,3 \pm 21,5$ gr; sisplatin+tadalafil+NAS kombinasyon tedavisi alan gruptaki ratların vücut ağırlığı ortalaması $327,3 \pm 22,1$ gr olarak ölçülmüştür. Çalışmanın 8. günündeki grupların ağırlık ortalamaları arasında istatistiksel anlamlı fark saptanmamıştır ($p=0,065$).

Çalışma sonunda kontrol grubunun vücut ağırlığı ortalaması $374,7 \pm 17,9$ gr; sisplatin tedavisi alan grubun vücut ağırlığı $326,5 \pm 46,5$ gr; sisplatin+tadalafil alan grubun vücut ağırlık ortalaması $322,3 \pm 49,5$ gr; sisplatin+NAS tedavisi alan grubun vücut ağırlığı ortalaması $310 \pm 41,7$ gr ve sisplatin+tadalafil+NAS kombinasyon tedavisi alan grubun vücut ağırlık ortalaması $304,5 \pm 36,4$ gr olarak hesaplandı. Çalışmanın sonunda ratların vücut ağırlıkları açısından gruplar arasında istatistiksel anlamlı fark saptandı ($p<0,05$). Çalışma sonunda gruplar karşılaştırmalı değerlendirildiğinde sadece kontrol grubunun vücut ağırlığının sisplatin+tadalafil+NAS kombinasyon tedavisi alan grup vücut ağırlığından istatistiksel anlamlı olarak yüksek saptandı ($p<0,005$). Diğer gruplar değerlendirildiğinde aralarında istatistiksel anlamlı fark izlenmedi. Ratların vücut ağırlıkları Tablo 9’da görülmektedir.

Tablo 9. Ratların vücut ağırlıkları

	Kontrol n=8	Sisplatin n=8	Sisplatin+ Tadalafil n=8	Sisplatin+ NAS n=6	Sisplatin+Ta dalafil+ NAS n=8	p
0. Gün Ağırlık (gr)						
Ortalama $\pm$ SS	278,8 $\pm$ 14,3	280 $\pm$ 12	267 $\pm$ 14,1	267,8 $\pm$ 19,6	273,8 $\pm$ 17,5	0,296 ¹
Ortanca (Min-Maks)	277,5 (260-300)	280 (265-300)	265 (253-293)	262 (250-300)	270 (253-300)	
8. Gün Ağırlık (gr)						
Ortalama $\pm$ SS	353,3 $\pm$ 16,9	345,3 $\pm$ 19	330 $\pm$ 20,6	326,3 $\pm$ 21,5	327,3 $\pm$ 22,1	0,065 ¹
Ortanca (Min-Maks)	356 (327-370)	342,5 (324-373)	333 (298-355)	332 (289-352)	323,5 (294-365)	
15. Gün Ağırlık (gr)						
Ortalama $\pm$ SS	374,7 $\pm$ 17,9	326,5 $\pm$ 46,5	322,3 $\pm$ 49,5	310 $\pm$ 41,7	304,5 $\pm$ 36,4	0,013 ¹
Ortanca (Min-Maks)	378,8 (343,3-394,6)	299,9 (287,7-407)	331,8 (221,1-390)	311,9 (241,6-364,8)	300,1 (245-355,7)	
p	<0,001 ²	0,002 ²	0,005 ²	0,030 ²	0,011 ²	

¹Kruskal Wallis Testi ²Friedman Testi

Çalışmanın başlangıcından itibaren sisplatin tedavisi verilen gün olan 8. güne kadar geçen sürede (0-8.gün) tüm gruplarda vücut ağırlığında artış izlendi. Kontrol grubundaki ratlarda 74,5 $\pm$ 13,6 gr ağırlık artışı görülmüşken; sisplatin grubundaki ratlarda bu dönemde 65,3 $\pm$ 16,5 gr; sisplatin+tadalafil grubundaki ratlarda 63 $\pm$ 16,3gr; sisplatin+NAS tedavisi alan ratlarda 58,5 $\pm$ 17,1gr; sisplatin+tadalafil+NAS kombinasyon tedavisi alan ratlarda 53,5 $\pm$ 27,2gr ağırlık artışı görüldü. Gruplar

arasında vücut ağırlıkları arasında istatistiksel anlamlı fark izlenmedi. Vücut ağırlıkları değişimi Tablo 10'da izlenmektedir.

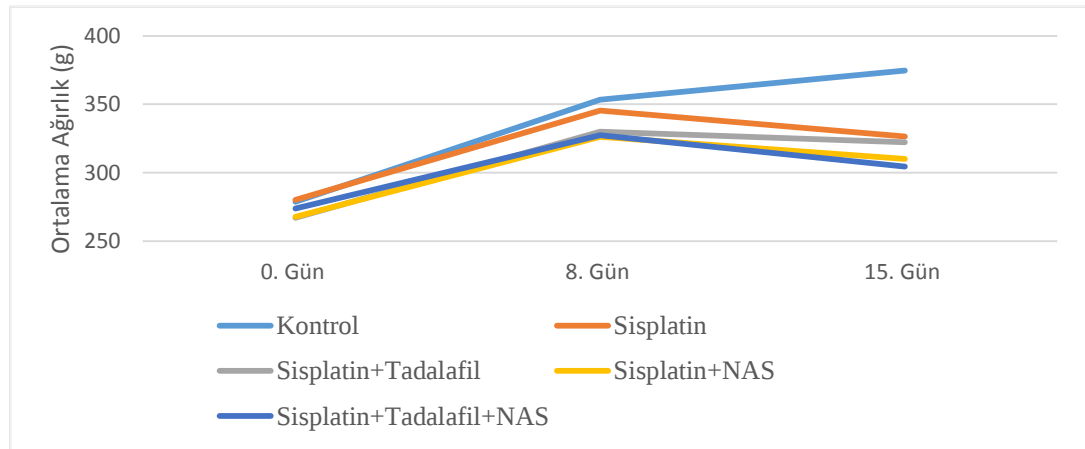
Tek doz sisplatin tedavisi verilen günden çalışma sonuna kadar geçen sürede (8-15 gün) kontrol grubundaki ratların vücut ağırlıklarında $21,4 \pm 8,4$ gr artış olurken; bu dönemde sisplatin grubunda $8,8 \pm 33,8$ gr; sisplatin+tadalafil alan grupta $7,7 \pm 50,2$ gr; sisplatin+NAS grubunda $16,4 \pm 21,7$ gr ve sisplatin+tadalafil+NAS kombinasyon tedavi grubunda $22,8 \pm 15,7$ gr'lık ağırlıklarında azalması gözlemlendi. Gruplar arasında vücut ağırlıkları değişiminde istatistiksel anlamlı fark izlendi ($p < 0,05$). Sisplatin verilen gruptaki ratların ağırlık kayıplarının istatistiksel anlamlı olmayacak şekilde tadalafil tedavisi eklenen gruptan daha fazla olduğu görüldü ($p = 0,674$). Vücut ağırlıkları değişimi Tablo 10'da izlenmektedir.

Tüm çalışma süresince kontrol grubundaki ratlarda $95,9 \pm 14,3$ gr ağırlık artışı mevcutken, sisplatin grubunda $46,5 \pm 44,2$ gr; sisplatin+tadalafil tedavi grubunda $55,3 \pm 47,7$ gr; sisplatin+NAS tedavi grubunda $42,2 \pm 35,8$ gr; sisplatin+tadalafil+NAS kombinasyon grubunda $30,7 \pm 40,8$ gr ağırlık artışı izlendi. Çalışma tüm zamanlı olarak değerlendirildiğinde gruplar arasında istatistiksel anlamlı fark izlendi ($p < 0,05$). Gruplar kendi içinde değerlendirildiğinde sadece kontrol grubundaki ağırlık artışının sisplatin+tadalafil+NAS kombinasyon tedavisi grubuna göre istatistiksel anlamlı daha fazla olduğu izlendi ($p < 0,005$). Ratların vücut ağırlık değişimleri Tablo 10'da görülmektedir.

Tablo 10. Ratların vücut ağırlık değişimleri

	Kontrol n=8	Sisplatin n=8	Sisplatin+ Tadalafil n=8	Sisplatin+ NAS n=6	Sisplatin+T adalafil+ NAS n=8	p
Ağırlık Farkı (0-8.Gün)						
Ortalama ±SS	74,5±13,6	65,3±16,5	63±16,3	58,5±17,1	53,5±27,2	0,402 ¹
Ortanca (Min-Maks)	71,5 (60-100)	68,5 (41-88)	70,5 (35-78)	63,5 (36-77)	63,5 (-6-75)	
Ağırlık Farkı (8-15. Gün)						
Ortalama ±SS	21,4±8,4	-8,8±33,8	-7,7±50,2	-16,4±21,7	-22,8±15,7	0,014 ¹
Ortanca (Min-Maks)	21,6 (9,2-37,9)	-32,7 (-60,8-34)	-9,9 (-76,9-85)	-20 (-47,4-12,8)	-22,8 (-49-5,7)	
Ağırlık Farkı (0-15.Gün)						
Ortalama ±SS	95,9±14,3	46,5±44,2	55,3±47,7	42,2±35,8	30,7±40,8	0,026 ¹
Ortanca (Min-Maks)	95,9 (78,4-124,6)	24,9 (7,1-122)	55,2 (-33,9-120)	50 (-8,4-84,8)	38,8 (-55-80,7)	

¹Kruskal Wallis Testi



Şekil 17. Ratların çalışma süresince vücut ağırlığı değişimleri

4.2. TESTİS AĞIRLIKLARI, TESTİS HACİMLERİ

Çalışmanın sonunda ratlar sakrifiye edildikten sonra bilateral orşiektomi uygulandı. Sol ve sağ testis ağırlıkları karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı fark izlendi ($p<0,05$; $p<0,05$).

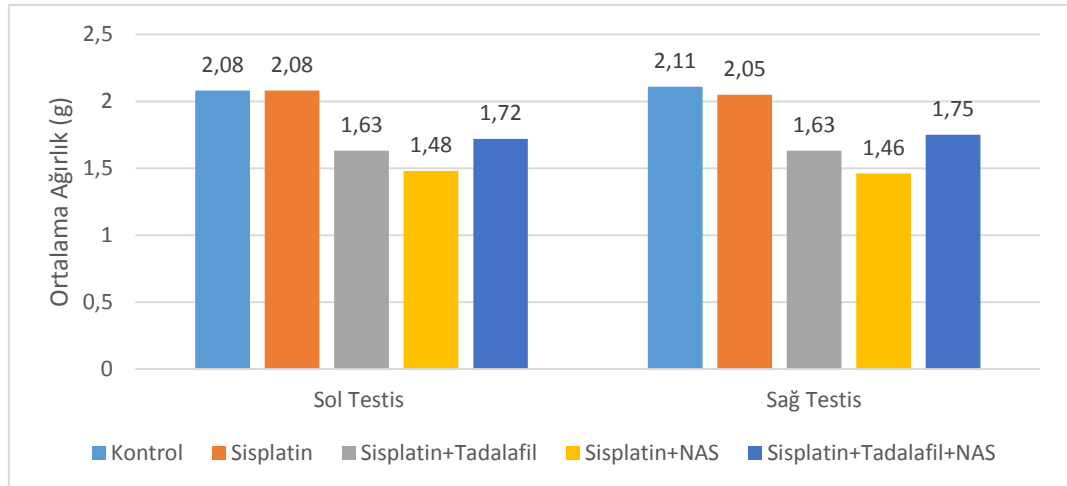
Sol testis ağırlıkları kontrol grubunda $2,08\pm0,49$ gr, sisplatin grubunda $2,08\pm0,44$ gr, sisplatin+tadalafil grubunda $1,63\pm0,53$ gr; sisplatin+NAS grubunda $1,48\pm0,33$ gr; sisplatin+tadalafil+NAS kombinasyon grubunda ise $1,72\pm0,17$ gr olarak ölçüldü. Kontrol grubu sol testis ağırlığının istatistiksel anlamlı olmayacak şekilde sisplatin grubu ile aynı olduğu, ayrıca sisplatin+tadalafil, sisplatin+NAS ve sisplatin+tadalafil+NAS kombinasyon tedavi grubundan daha fazla olduğu izlendi ($p=0,878$; $p=0,065$; $p=0,014$; $p=0,018$). Sisplatin grubunun sol testis ağırlığının istatistiksel anlamlı olmayacak şekilde sisplatin+tadalafil, sisplatin+NAS ve sisplatin+tadalafil+NAS kombinasyon tedavi grubundan daha fazla olduğu gözlemlendi ($p=0,074$; $p=0,020$; $p=0,074$). Kombinasyon tedavisi alan grubun sol testis ağırlığının istatistiksel anlamlı olmayacak şekilde sisplatin+tadalafil ve sisplatin+NAS daha yüksek olduğu izlendi ($p=0,636$; $p=0,106$). Sol testis ağırlıkları Tablo 11’de ve Şekil 18’de izlenebilmektedir.

Sağ testis ağırlıkları değerlendirildiğinde sağ testis ağırlıkları kontrol grubunda $2,11\pm0,38$ gr, sisplatin grubunda $2,05\pm0,51$ gr, sisplatin+tadalafil grubunda $1,63\pm0,52$ gr; sisplatin+NAS grubunda $1,46\pm0,32$ gr; sisplatin+tadalafil+NAS kombinasyon grubunda ise $1,75\pm0,15$ gr olarak ölçüldü. Kontrol grubu sağ testis ağırlıklarının diğer gruplardan istatistiksel anlamlı olmayacak şekilde daha yüksek olduğu gözlemlendi ($p=0,599$; $p=0,046$; $p=0,014$; $p=0,021$). Sisplatin grubunun sağ testis ağırlığının sisplatin+tadalafil, sisplatin+NAS ve sisplatin+tadalafil+NAS kombinasyon tedavisi grubundan istatistiksel anlamlı olmayacak şekilde daha fazla olduğu izlendi ($p=0,172$; $p=0,093$; $p=0,294$). Sisplatin+tadalafil+NAS kombinasyon tedavi grubunun testis ağırlıklarının sisplatin+tadalafil ve sisplatin+NAS tedavi gruplarından istatistiksel anlamlı olmayacak şekilde daha yüksek olduğu izlendi ($p=0,462$; $p=0,033$). Sağ testis ağırlıkları Tablo 11’de ve Şekil 18’de izlenebilmektedir.

Tablo 11. Ratların sağ ve sol testis ağırlıkları

	Kontrol	Sisplatin	Sisplatin+ Tadalafil	Sisplatin+ NAS	Sisplatin+ Tadalafil+ NAS	p
	n=8	n=8	n=8	n=6	n=8	
Sol Testis Ağırlıkları (gr)						
Ortalama $\pm$ SS	2,08 $\pm$ 0,49	2,08 $\pm$ 0,44	1,63 $\pm$ 0,53	1,48 $\pm$ 0,33	1,72 $\pm$ 0,17	0,016 ¹
Ortanca (Min-Maks)	2,18 (1,04-2,69)	2 (1,45-2,74)	1,69 (1,01-2,63)	1,6 (0,9-1,75)	1,72 (1,42-1,9)	
Sağ Testis Ağırlıkları (gr)						
Ortalama $\pm$ SS	2,11 $\pm$ 0,38	2,05 $\pm$ 0,51	1,63 $\pm$ 0,52	1,46 $\pm$ 0,32	1,75 $\pm$ 0,15	0,042 ¹
Ortanca (Min-Maks)	2,25 (1,26-2,39)	2,24 (1,37-2,63)	1,69 (0,96-2,62)	1,53 (0,87-1,77)	1,73 (1,54-1,98)	

¹Kruskal Wallis Testi



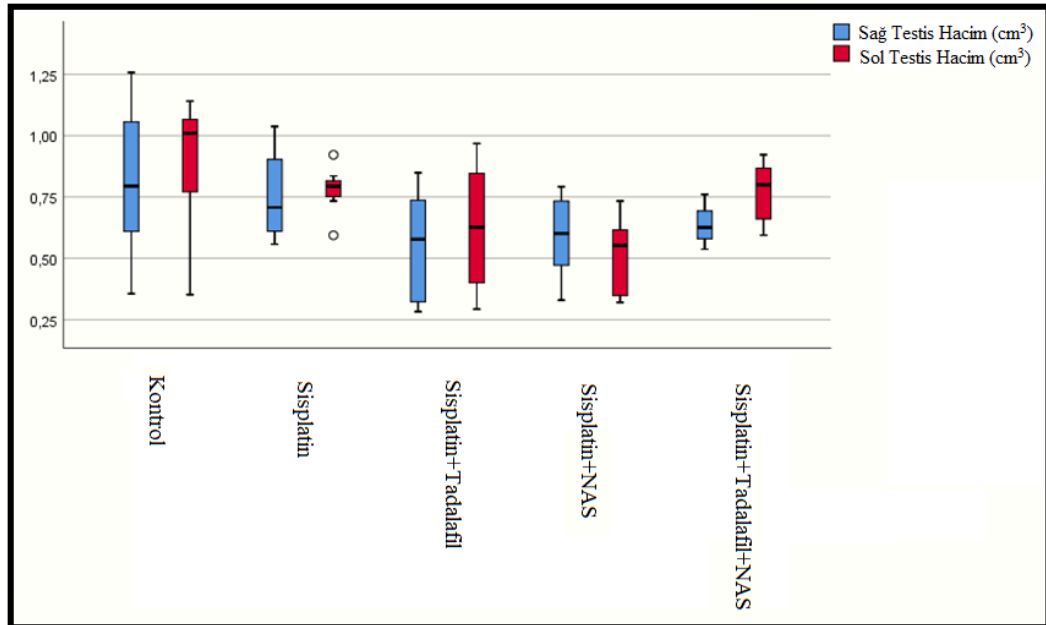
Şekil 18. Ratların testis ağırlık grafiği

Sağ testis hacimleri hesaplandığında kontrol grubunun $0,82\pm0,3 \text{ cm}^3$; sisplatin grubunun $0,75\pm0,18 \text{ cm}^3$; sisplatin+tadalafil grubunun $0,55\pm0,23 \text{ cm}^3$; sisplatin+NAS grubunun $0,55\pm0,23 \text{ cm}^3$; sisplatin+tadalafil+NAS kombinasyon grubunun $0,64\pm0,08 \text{ cm}^3$ olarak hesaplandı. Ratların testis hacimleri karşılaştırıldığında sağ testis hacimleri arasında istatistiksel anlamlı fark izlenmedi ($p=0,192$). Gruplar arası karşılaştırmada sağ testis hacimleri arasında en yüksek hacimli grubun kontrol grubunda olduğu görüldü. Sisplatin+tadalafil+NAS kombinasyon tedavisi verilen grubun testis hacimleri sisplatin+tadalafil ve sisplatin+NAS verilen gruptan yüksek olduğu izlendi. Sağ testis hacimleri Tablo 12 ve Şekil 19'da görülmektedir.

Sol testis hacimleri hesaplandığında kontrol grubunun $0,9\pm0,27 \text{ cm}^3$; sisplatin grubunun $0,78\pm0,09 \text{ cm}^3$; sisplatin+tadalafil grubunun $0,63\pm0,25 \text{ cm}^3$; sisplatin+NAS grubunun $0,63\pm0,25 \text{ cm}^3$; sisplatin+tadalafil+NAS kombinasyon grubunun $0,77\pm0,12 \text{ cm}^3$ olarak hesaplandı. Ratların testis hacimleri karşılaştırıldığında sol testis hacimleri arasında istatistiksel anlamlı fark izlendi ($p<0,05$). Grup içi karşılaştırmada sol testis hacimleri arasında en yüksek hacimli grubun kontrol grubu olduğu; fakat diğer gruplarla istatistiksel anlamlı fark olmadığı izlendi ($p=0,093$; $p=0,04$; $p=0,014$; $p=0,093$). Sisplatin+tadalafil+NAS kombinasyon tedavisi verilen grubun sisplatin+tadalafil ve sisplatin+NAS tedavisi verilen gruptan istatistiksel anlamlı olmayacak şekilde daha büyük olduğu izlendi ($p=0,269$; $p=0,01$). Sol testis hacimleri Tablo 12 ve Şekil 19'de görülmektedir.

Tablo 12. Ratların testis hacimleri

	Kontrol n=8	Sisplatin n=8	Sisplatin+ Tadalafil n=8	Sisplatin+ NAS n=6	Sisplatin+ Tadalafil+ NAS n=8	p
Sağ Testis Hacim (cm³)						
Ortalama ±SS	0,82±0,3	0,75±0,18	0,55±0,23	0,55±0,23	0,64±0,08	0,192 ¹
Ortanca (Min-Maks)	0,79 (0,36-1,26)	0,71 (0,56-1,04)	0,58 (0,28-0,85)	0,58 (0,28-0,85)	0,63 (0,54-0,76)	
Sol Testis Hacim (cm³)						
Ortalama ±SS	0,9±0,27	0,78±0,09	0,63±0,25	0,63±0,25	0,77±0,12	0,011 ¹
Ortanca (Min-Maks)	1,01 (0,35-1,14)	0,79 (0,59-0,92)	0,63 (0,29-0,97)	0,63 (0,29-0,97)	0,8 (0,59-0,92)	

¹Kruskal Wallis Testi**Şekil 19.** Rat Testis Hacimleri

4.3. KAN TESTOSTERON, TESTİS MDA, COSENTİNO VE JOHNSEN SKORLARI, APOPTOTİK İNDEKS

Çalışma sonunda intrakardiyak alınan kan testosteron seviyeleri ölçüldüğünde kontrol grubunda $6,25 \pm 4,33$ ug/l; sisplatin grubunda $3,21 \pm 1,47$ ug/l; sisplatin+tadalafil grubunda $4,82 \pm 6,45$ ug/l; sisplatin+NAS grubunda $2,81 \pm 2,82$ ug/l ve sisplatin+tadalafil+NAS kombinasyon grubunda $2,83 \pm 2,1$ ug/l olarak ölçüldü. Gruplar arasında testosteron seviyeleri arasında istatistiksel anlamlı fark izlenmedi ($p=0,106$). Kontrol grubunun kan testosteron seviyesi en yüksek grup olarak izlenirken; sisplatin+tadalafil tedavisi verilen grubun sisplatin verilen gruptaki testosteron seviyesinden daha yüksek olduğu izlendi. Kan testosteron değerleri Tablo 13'de görülmektedir.

Testis MDA değerleri kontrol grubunda $1,04 \pm 0,45$ nmol/mg; sisplatin grubunda $5,87 \pm 1,18$ nmol/mg; sisplatin+tadalafil grubunda $7,11 \pm 1,36$ nmol/mg; sisplatin+NAS grubunda $5,37 \pm 0,91$ nmol/mg ve sisplatin+tadalafil+NAS kombinasyon grubunda $6,41 \pm 0,95$ nmol/mg olarak ölçüldü. Testis MDA değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı izlendi ($p<0,05$). MDA değerleri en düşük kontrol grubunda izlenirken, en yüksek sisplatin+tadalafil tedavisi verilen grupta görüldü. Kontrol grubundaki MDA değerleri istatistiksel anlamlı diğer gruplardan daha az izlendi ($p<0,005$; $p<0,005$; $p<0,005$; $p<0,005$). Kontrol grubu dışındaki gruplar kendi içlerinde karşılaştırıldığında birbirleri arasında istatistiksel anlamlı bir fark izlenmedi. Testis MDA değerleri Tablo 13'de görülmektedir.

Testiküler Cosentino skorları değerlendirildiğinde kontrol grubu $1,75 \pm 1,04$; sisplatin grubu $2,63 \pm 0,52$; sisplatin+tadalafil grubu $2,38 \pm 0,74$; sisplatin+NAS grubu $2,83 \pm 0,75$; sisplatin+tadalafil+NAS kombinasyon tedavi grubu $1,88 \pm 0,35$ olarak görüldü. Gruplar değerlendirildiğinde Cosentino skorlarında istatistiksel anlamlı fark izlendi ($p<0,05$). En düşük Cosentino skorunun kontrol grubunda, en yüksek skorun ise sisplatin grubunda olduğu izlendi. Sisplatin verilen grubun Cosentino skorunun sisplatin+tadalafil verilen gruptan daha yüksek olduğu ve sisplatin+tadalafil+NAS kombinasyon tedavisi verilen grubun ise sisplatin+tadalafil verilen gruptan daha düşük olduğu izlendi. Gruplar kendi içerisinde değerlendirildiğinde istatistiksel anlamlı fark saptanmadı. Sisplatin verilen grubun Cosentino skorları değerlendirilmesinde sisplatin+tadalafil+NAS kombinasyon tedavisi verilen grupla karşılaştırıldığında en

düşük p değerine sahip olan ve istatistiksel anlamlılığı yapan grup olarak izlendi ($p=0,008$). Testiküler Cosentino skorları Tablo 13’de görülmektedir.

Testiküler Johnsen skorları değerlendirildiği zaman kontrol grubu $9,25\pm2,12$; sisplatin verilen grup 10 ± 0 ; sisplatin+tadalafil verilen grup $9,25\pm2,12$; NAS verilen grup $9\pm2,45$; ve sisplatin+tadalafil+NAS kombinasyon tedavisi verilen grup 10 ± 0 olarak izlendi. Gruplar arasında istatistiksel anlamlı fark saptanmadı ($p=0,661$). Johnsen skorları Tablo 13’de görülmektedir.

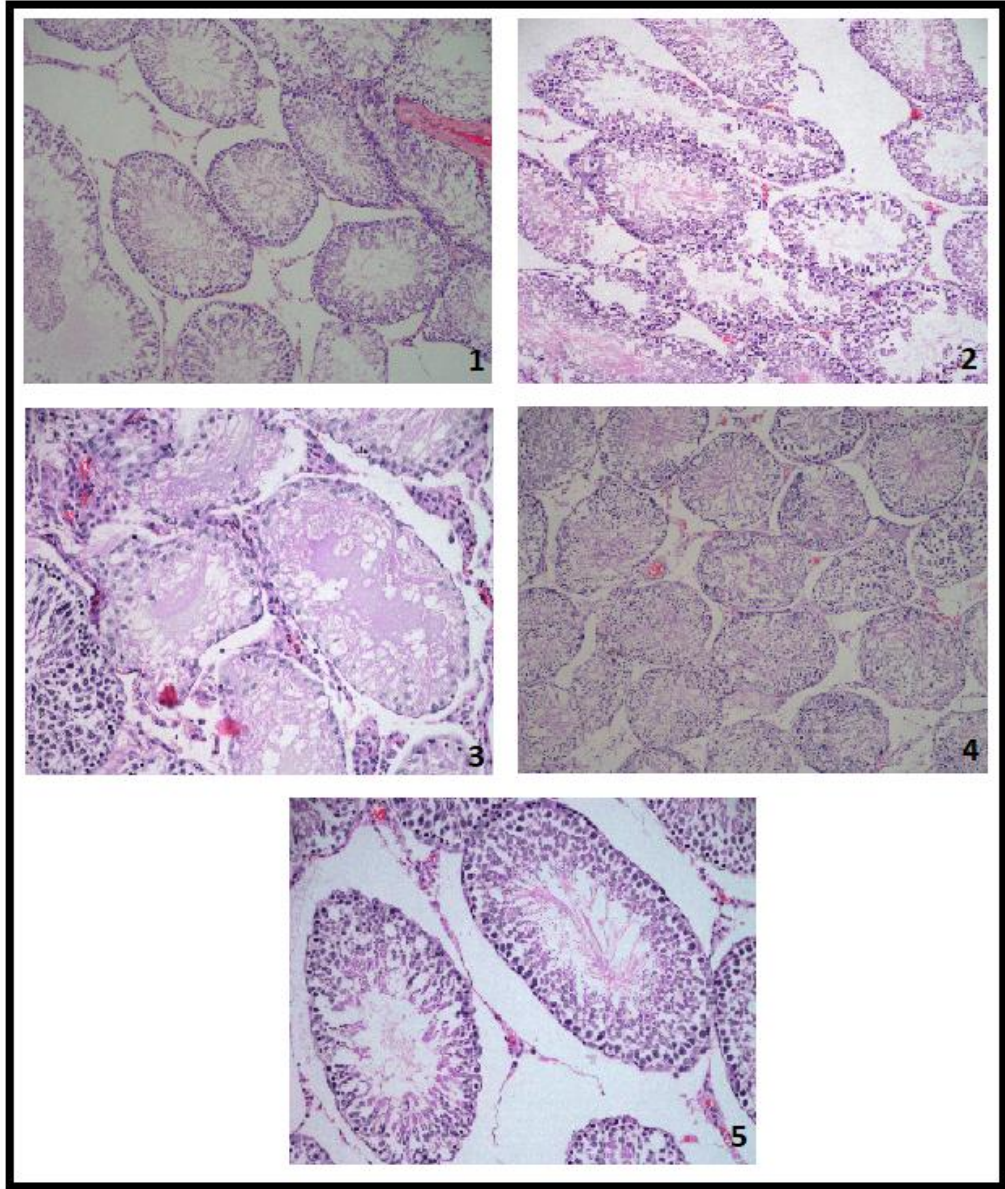
Testis apoptotik indeksi değerlendirildiğinde kontrol grubu $10,65\pm4,49$; sisplatin grubu $20,44\pm3,98$; sisplatin+tadalafil grubu $17,31\pm2,9$; sisplatin+NAS grubu $17,48\pm2,64$ ve sisplatin+tadalafil+NAS kombinasyon grubu $12,82\pm1,58$ olarak izlendi. Apoptotik indeks değerlerinde istatistiksel anlamlı fark gözlemlendi ($p<0,05$). Apoptotik indeksin en düşük kontrol grubunda olduğu ve sisplatin verilen grupta en yüksek olduğu izlendi. Sisplatin verilen gruptaki apoptotik indeksin kontrol grubuna göre istatistiksel anlamlı daha yüksek olduğu görüldü ($p<0,005$). Sisplatin verilen grubun apoptotik indeksi sisplatin+tadalafil ve sisplatin+NAS verilen gruptan istatistiksel anlamlı fark oluşturmayacak şekilde daha yüksek olduğu ($p=0,092$; $p=0,137$) ve sisplatin+tadalafil+NAS kombinasyon tedavisi verilen gruptan istatistiksel anlamlı daha yüksek olduğu izlendi ($p<0,005$). Sisplatin+tadalafil+NAS kombinasyon tedavisi verilen grubun sisplatin+tadalafil verilen gruptan apoptotik indeksinin istatistiksel anlamlı daha düşük olduğu izlendi ($p<0,005$); fakat sisplatin+NAS grubu ile arasında istatistiksel anlamlı fark oluşturmadığı görüldü ($p=0,014$). Testis apoptotik indeks değerlendirilmesi Tablo 13’de görülmektedir.

Sisplatin verilen grupta apoptotik indeks ve Cosentino skorları arasında istatistiksel olarak anlamlı pozitif yönde güçlü korelasyon olduğu tespit edildi ($p=0,037$; $r=0,737$). Aynı şekilde sisplatin+tadalafil verilen grupta da apoptotik indeks ve Cosentino skorları arasında pozitif yönde güçlü korelasyon gözlenmişken ($r=0,757$; $p=0,03$); bu durum sisplatin+NAS verilen grup ($r=0,617$; $p=0,192$) ve sisplatin+tadalafil+NAS kombinasyon tedavisi verilen grupta ($r=0,415$; $p=0,307$) izlenmemiştir. Testislerin Hematoksilen&Eozin ile boyanması Şekil 20’de ve apoptotik indeks değerlendirilmesi amaçlı anti-APAF boyanması Şekil 21’de görülmektedir.

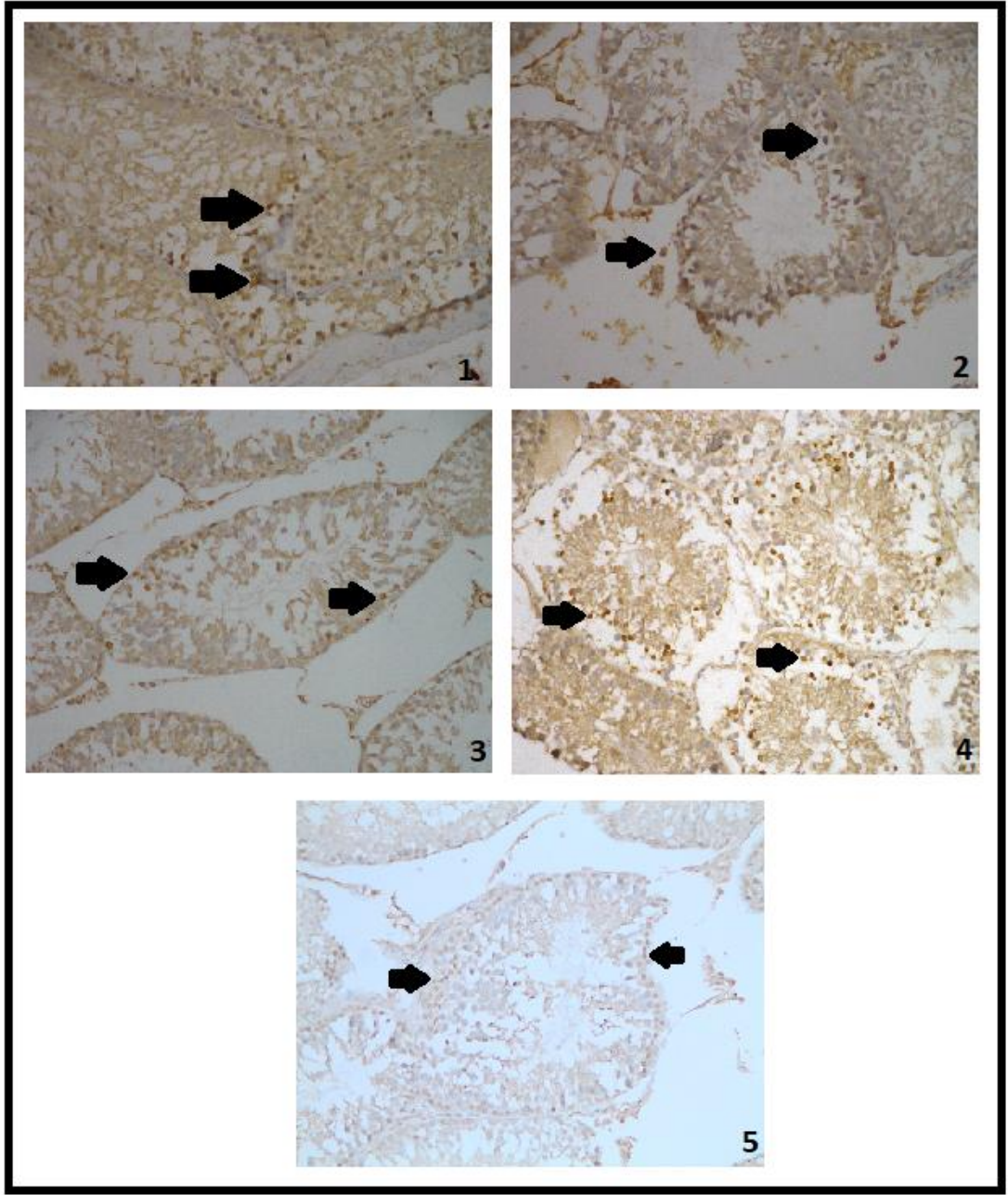
Tablo 13. Ratların testosteron, testis MDA, Cosentino, Johnsen ve apoptotik indeks skorları

	Kontrol n=8	Sisplatin n=8	Sisplatin +Tadalafil n=8	Sisplatin +NAS n=6	Sisplatin +Tadalafil +NAS n=8	p
Testesteron (ug/l)						
Ortalama ±SS	6,25±4,33	3,21±1,47	4,82±6,45	2,81±2,82	2,83±2,1	0,106¹
Ortanca (Min-Maks)	5,46 (1,91-16,17)	3,23 (0,37-5,58)	1,85 (0,76-18,49)	1,66 (0,64-8,26)	2,48 (0,83-7,26)	
Testis MDA (nmol/mg)						
Ortalama ±SS	1,04±0,45	5,87±1,18	7,11±1,36	5,37±0,91	6,41±0,95	<0,001¹
Ortanca (Min-Maks)	1,02 (0,47-2,04)	6,14 (4,19-7,08)	7,55 (5,24-8,57)	5,09 (4,46-6,51)	6,34 (5,17-7,91)	
Cosentino Skoru						
Ortalama ±SS	1,75±1,04	2,63±0,52	2,38±0,74	2,83±0,75	1,88±0,35	0,014¹
Ortanca (Min-Maks)	1,5 (1-4)	3 (2-3)	2 (2-4)	3 (2-4)	2 (1-2)	
Johnsen Skoru						
Ortalama ±SS	9,25±2,12	10±0	9,25±2,12	9±2,45	10±0	0,661¹
Ortanca (Min-Maks)	10 (4-10)	10 (10-10)	10 (4-10)	10 (4-10)	10 (10-10)	
Apoptotik İndeks						
Ortalama ±SS	10,65±4,49	20,44±3,98	17,31±2,9	17,48±2,64	12,82±1,58	<0,001¹
Ortanca (Min-Maks)	9,84 (5,8-19,8)	21,33 (13,67-25,5)	16,42 (14,33-21,67)	17,65 (13,3-20,8)	13,42 (9,8-14,5)	

¹Kruskal Wallis Testi



Şekil 20. Hematoksilen&Eozin Boyama (1. Şekil: Kontrol grubu, germinal hücrelerin düzenli olarak düzenlendiği normal testiküler yapı; 2. Şekil: Sisplatin grubu, piknotik çekirdekli, düzensiz yerleşimli, dökülmüş germinal hücreler ve sınırları daha az belirgin olan seminifer tübüller; 3. Şekil: Sisplatin+Tadalafıl grubu, koagülasyon nekrozu görülen germ hücreleri ve sıkı yerleşimli seminifer tübüller; 4. Şekil: Sisplatin+NAS grubu, piknotik çekirdekli, düzensiz yerleşimli, dökülmüş germinal hücreler ve sınırları daha az belirgin olan seminifer tübüller; 5. Şekil: Sisplatin+Tadalafıl+NAS grubu, germinal hücrelerin düzenli olarak düzenlendiği normal testiküler yapı)



Şekil 21. Anti-APAF 1 ile boyanma 1. Şekil: Kontrol grubu; 2. Şekil: Sisplatin grubu; 3. Şekil: Sisplatin+Tadalafıl grubu; 4. Şekil: Sisplatin+NAS grubu; 5. Şekil: Sisplatin+Tadalafıl+NAS grubu (siyah ok: apoptotik hücreler)

Testosteron ve ortalama testis ağırlıkları oranı değerlendirilmesinde kontrol grubu $3,06 \pm 1,88$ ug/l.gr; sisplatin grubu $1,55 \pm 0,68$ ug/l.gr; sisplatin+tadalafil grubu $2,81 \pm 3,51$ ug/l.gr; sisplatin+NAS grubu $2,05 \pm 1,96$ ug/l.gr; sisplatin+tadalafil+NAS kombinasyon tedavi grubu $1,59 \pm 1,08$ ug/l.gr olarak ölçülmüş olup aralarında istatistiksel anlamlı fark saptanmamıştır ($p=0,308$). Kontrol grubunda testosteron ve ortalama testis ağırlığı oranı en yüksek iken sisplatin verilen grupta bu oranın düştüğü ve sisplatin tedavisinin yanında tadalafil verilmesi durumunda oranın düşüşünün azaldığı gözlenmiştir. Sisplatin+NAS ve sisplatin+tadalafil+NAS kombinasyon tedavi grubunda ise oranın sisplatin verilen gruptan daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Testosteron ve ortalama testis ağırlığı oranı Tablo 14’de gösterilmiştir.

MDA ve ortalama testis ağırlıkları oranı değerlendirildiğinde kontrol grubunda $0,53 \pm 0,26$ nmol/mg.gr; sisplatin grubunda $2,91 \pm 0,63$ nmol/mg.gr; sisplatin+tadalafil grubunda $4,78 \pm 1,94$ nmol/mg.gr; sisplatin+NAS grubunda $3,79 \pm 0,97$ nmol/mg.gr; sisplatin+tadalafil+NAS kombinasyon grubunda $3,7 \pm 0,37$ nmol/mg.gr olarak izlenmiştir. Gruplar arasında istatistiksel anlamlı fark saptanmıştır ($p<0,05$). MDA ve testis ağırlık oranının kontrol grubunda diğer gruplara göre istatistiksel anlamlı daha düşük olduğu gözlenmiştir ($p<0,005$; $p<0,005$; $p<0,005$; $p<0,005$). Sisplatin+tadalafil ve sisplatin+NAS verilen gruplarında sisplatin grubuna göre oranların daha yüksek olduğu ve sisplatin+tadalafil+NAS kombinasyon tedavi grubunda ise sisplatin+tadalafil, sisplatin+NAS gruplarına göre daha düşük olduğu izlenmiştir. MDA ve ortalama testis ağırlığı oranı Tablo 14’de gösterilmiştir.

Tablo 14. Rat kan testosteron, testiküler doku MDA'sının Testis Ağırlıklarına Oranı

	Kontrol n=8	Sisplatin n=8	Sisplatin+ Tadalafil n=8	Sisplatin+ NAS n=6	Sisplatin+ Tadalafil+ NAS n=8	p
Testosteron/Ort. Testis Ağırlık (ug/l.gr)						
Ortalama ±SS	3,06±1,88	1,55±0,68	2,81±3,51	2,05±1,96	1,59±1,08	0,308 ¹
Ortanca (Min-Maks)	2,59 (0,87-6,37)	1,54 (0,23-2,46)	1,24 (0,29-10,42)	1,02 (0,47-5,21)	1,49 (0,56-3,85)	
MDA/Ort. Testis Ağırlık (nmol/mg.gr)						
Ortalama ±SS	0,53±0,26	2,91±0,63	4,78±1,94	3,79±0,97	3,7±0,37	<0,001 ¹
Ortanca (Min-Maks)	0,47 (0,22-0,94)	2,75 (2,05-3,9)	4,17 (3,01-8,7)	3,61 (2,64-5,5)	3,67 (3,08-4,2)	

¹Kruskal Wallis Testi

5. TARTIŞMA

Sisplatin günümüzde testis, mesane, akciğer, over, meme, beyin, safra kesesi, mide, tükürük bezi, kolon, prostat, melanom, pankreas, plevral mezotelyoma ve baş-boyun kanserleri gibi solid kanserlerin tedavisinde tercih edilen içerisinde organik platinum bileşiği barındıran KT ilacı olarak kullanılmaktadır. Sisplatin tedavisi ürolojide özellikle testis, mesane ve germ hücreli kanserlerde kullanılmaktadır (1).

Sisplatin vücuda verildiği zaman metabolik aktifliği fazla olan kanser hücrelerinde etki göstermekle birlikte normal doku hücrelerine de etki etmektedir. Vücutta tüm hücreler üzerindeki etki nedeniyle değişik organlarda toksisite gözlenmektedir. Bunlardan bazıları hepatoksisite, nefrotoksisite, nörotoksisite, kardiyotoksisite ve myelosupresyondur.

Sisplatin karaciğerde oksidatif strese bağlı olarak hepatotoksisiteye neden olmaktadır. Hepatoksisite gelişimini gözlemlemek amacıyla sık olarak kullanılan biyomarkerlar transaminaz enzimleri [alanin transaminaz (ALT) ve aspartat transaminaz (AST)], LDH, alkalin fosfat (ALP), bilirubin seviyeleri ile yapılabilmektedir. Sisplatine bağlı hepatotoksisiteden korunmak amacıyla ganoderma lucidum mantarı, curcumin, sarımsak yağı (allium sativum) ve alfa lipoik asit deneysel olarak kullanılmıştır (114-117).

Sisplatin sinirler üzerinde etkili olarak nörotoksisiteye yol açabilmektedir. Ani şuur kaybı, ototoksisite, paralizi, polinöropati, ağrı ve serebral enfarktlara neden olabilmektedir. Sisplatinin nörotoksisitesinden korunmak amacıyla thymoquinone, geraniol gibi deneysel maddeler kullanılmış ve başarılı olduğu görülmüştür (118,119).

Sisplatinin kardiyotoksik etkisinin artmış oksidatif strese bağlı olduğu düşünülmüştür. Sisplatinin kalp kasında mitokondrial permeabiliteyi bozarak kalp kası hücrelerinde lipid peroksidasyonu, kas hücrelerinde nekroz ve sitoplazmada vakuolizasyon oluşturarak; aritmi, EKG değişiklikleri, myokardit, kardiyomiyopati ve konjestif kalp hastalıklarına neden olduğu bilinmektedir. Sisplatinin kardiyotoksisite etkisinden korunmak için asetil-L-karnitin, trimetazidin, koenzim

Q10 gibi moleküller deneysel olarak verilmiş ve kalp kasında apoptozisi azalttığı görülmüştür. Kalp kasındaki hasar LDH ve kreatin kinaz (CK) ile takip edilebilmektedir (1,120,121).

Sisplatinin böbrek dokusu üzerinde de yan etkisi bulunmaktadır. Bunun en büyük nedeni sisplatinin böbreklerden ekskresyonuna bağlı olduğu düşünülmektedir. Sisplatin böbrekten hem glomeruler filtrasyon hem de tübüler sekresyon yolu ile atılmaktadır. Bu nedenle sisplatinin böbrek dokusundaki konsantrasyonu kan seviyesinden 5 kat daha fazla olarak bulunmaktadır. Sisplatinin nefrotoksitesinde sorumlu olan durum, yağ asitlerinin katabolizmasında mitokondrinin içerisine taşınmasını sağlayan karnitin üretimini bozması ve oksidatif strese bağlı lipid peroksidasyonuna sebep olmasıdır. Nefrotoksiste histopatolojisi incelendiğinde tübüllerde bazal membranda kalınlaşma, epitel hücrelerinde dökülme, fokal alanlarda tübüler nekroz ve vakuolizasyon, böbrek vasküler yapısında bozulmaya bağlı kan akımında azalma görülmektedir. Bu durum böbrekte en çok proksimal tübüllerde hasara neden olmaktadır. Nefrotoksiste sisplatine bağlı en çok karşılaşılan doz kısıtlayıcı yan etki olarak belirtilmektedir. Nefrotoksistenin devam etmesi durumunda tübül kaybı, tübülointerstisyel nefrite bağlı olan kronik böbrek yetmezliği gelişebilmektedir. Bu şekilde gelişen nefrotoksisiteden korunmak amacıyla deneysel çalışmalarda değişik moleküller deneysel olarak denenmiş ve başarılı bulunmuştur. Bunlardan bazıları C vitamini, anjiyotensin reseptör blokleri olan kandesartan, silastatindir (1,86-88,122,123).

Sisplatine bağlı oksidatif stres artışı gastrointestinal sistemi de hasara uğratmaktadır. Artmış oksidatif hasar hızlı hücresel döngüsü olan ince bağırsak mukozasını da etkilemekte ve mukozada dökülmelere ve villuslarda kayba yol açmaktadır. Mukoza hücrelerinde apoptoz ve inflamasyonda artış izlenmektedir. Gastrointestinal toksisiteye bağlı olarak ishal, bulantı-kusma, malabsorpsiyon, mukozit ve enterik sinir sisteminde bozulmayla beraber gastroenterik dismotiliteye yol açmakta; bu durum hastada kilo kaybı ve kaşeksiye neden olmaktadır. Özellikle bulantının nedeni olarak enterik sinir sisteminde serotonin (5-HT₃) artışı olduğu gösterilmiş ve 5-HT₃ inhibitörleri olan ondansetron, granisetron gibi maddeler kullanıldığında sisplatinin yapmış olduğu histopatolojik hasarı önlemese de hastanın

bulantı şikayetinin azaldığı gözlenmiştir. Ayrıca histopatolojik bozulmadan korunmak amacıyla deneysel olarak ginseng, glukagon benzeri peptid-2 (GLP-2) gibi moleküller denenmiş ve korumada etkili olduğu görülmüştür (124-127).

Sisplatinin bahsedilen yan etkileri dışında hiç de azımsanmayacak oranda görülen yan etkisi doz bağımlı olarak geçici veya kalıcı şekilde ortaya çıkan infertilitedir. Sisplatin bu etkisini hücre döngüsüne spesifik olmayacak şekilde gerçekleştirmektedir (1). Sukhu ve ark. fertilizasyon isteği olan genç erkeklerle alkilliyici ajan ailesinden herhangi bir kemoterapötük ajan verildiğinde hastalarda ileriki dönemlerde infertilite görülebileceğini ve ailelerin bu durum hakkında bilgilendirilmesi gerektiğini belirtmektedir (128). Sisplatinin infertilite üzerine olan etkileri testiste leydig hücreleri, sertoli hücreleri ve germ hücreleri üzerine etki göstererek azospermi veya oligospermiye neden olmasıdır (83,129). Howell ve Shalet yaptıkları çalışmada sisplatin tedavisi alan erkeklerin geçici azospermi ile karşılaştıkları ve KT tedavisi sonrası %50'sinin 2 yıl içinde ve %80'inin 5 yıl içinde azospermisinin düzeldiğini belirtmişlerdir (130). Sisplatin seminifer tübüllerin normal yapısının bozulmasına, torsiyone şekil almasına, tübül kalınlığında azalmaya, tübül epitel yüksekliğinde azalmaya, tübüllerde inflamatuvar hücre sayısında artışa, tübül lümeninde hücre agregatları oluşmasına yol açmaktadır (85,91,92,131). Sisplatin leydig hücre sayısında azalma ve leydig hücrelerinde dejenerasyona neden olmaktadır (85). Sisplatin sertoli hücre sayısında ise azalma yapmazken, hücre içerisinde vakuolizasyon ve sitoplazmalarında dens granül oluşumu, ABP, östrojen ve laktat sekresyonunda artışa yol açmaktadır. Ayrıca sisplatin sertoli hücrelerindeki vimentin, proteinlerinin yapısını bozarak sertoli hücreleri ile olan ilişkisini sekteye uğratarak spermatogonyum apoptozuna neden olan sebeplerden biri olurken, okludin proteinini bozarak sertoli hücreleri arasındaki sıkı bağlantıların bozulmasına neden olmaktadır. Tip A spermatogonyumlardaki apoptoz infertilitenin en büyük nedeni olarak gösterilmektedir (90,132-134). Sisplatin spermier üzerine de yan etkilere sahiptir. Sisplatin maruziyetinin ardından hem seminifer tübüllerde hem de epididimal sperm konsantrasyonunda azalma, normal sperm morfolojisinde bozulma (kafa ve kuyruk morfolojisinde değişiklikler) ve spermierde motilite kaybına yol açmaktadır. Seminifer tübüller içerisinde hem Tip A spermatogonyum hem de Tip B spermatogonyum sayısında azalma izlenmektedir (135,136). Namekawa ve ark. testis

tümörü sonrasında sisplatin alan hastalara yaptıkları takip sonrasında azospermi durumunun doz bağımlı ortalama 40 ay sonra düzeldiğini ve ayrıca sisplatinin DNA kırıklarına neden olduğunu, DNA'daki düzelmenin ise 12-24 ay sonra normale döndüğünü belirtmektedirler (137). Prasad ve Prasad çalışmalarında iyi diferansiye spermatojenik hücre sayısında azalmaya, testisin normal anatomik yapısının bozulmasına, testisin devamlılığı için yeterli düzeyde kan testosteron düzeyinin sağlanamaması nedeniyle testis ağırlıklarında azalmaya neden olduğunu belirtmişlerdir (132). Sisplatin'in daha önce bu yan etkilerinden korunmak amacıyla çalışmalarda rutin, ghrelin, honokiol, L-karnitin, relaksin, fukoksantin, nilotinib gibi birçok madde deneysel olarak kullanılmış ve toksisiteden korunmada bu moleküllerin başarılı olduğu gözlenmiştir (3-6,88,90,92,131-133,135,136,138).

Sisplatin ürolojik olarak özellikle testis ve mesane kanserlerinde kullanılmaktadır. Mesane kanseri nedeniyle sisplatin KT'si alan hastalar genellikle daha ileri yaşta fertilizasyon amacı olmayan bireylerden oluşmaktadır. Öte yandan testis tümörü nedeniyle orşiektomi operasyonu geçiren veya geçirmeyen, adjuvan tedavi olarak sisplatin kullanan hastalar daha genç yaşta ve paternalite isteği olan grubu oluşturmaktadır. Bu nedenle daha önce antioksidan etkileri gösterilmiş olan tadalafil ve NAS moleküllerini hem tek tek hem kombine olarak kullanmayı, testis üzerinde oluşan hasarı gerek biyokimyasal gerekse histopatolojik yönlerden değerlendirmeyi amaçladık.

Sisplatin daha önce belirtildiği gibi gastrointestinal toksisiteye bağlı olarak malabsorpsiyon, ishal ve bulantı-kusmaya neden olmaktadır. Hastalar sisplatin tedavisi sonrasında besin alımında azalma ile birlikte kilo kaybı ile karşılaşabilir hatta bu durum kaşeksiye kadar ilerleyebilmektedir. Bu nedenle Aly ve Eid'in yaptığı resveratrolün sisplatine bağlı mitokondrial yolak üzerinden oksidatif hasarın önlenmesi çalışmasında sisplatin tedavisi alan gruptaki ratların hem vücut ağırlıklarında hem de testis ağırlıklarında kontrol grubuna göre azalma olduğu gözlenmiştir (92). Aboul-Naga ve ark. (133) sisplatinin spermatogenez üzerindeki yan etkisinden korunmak için yaptıkları çalışmalarında; Saad ve ark. (136) nilotinibin sisplatin toksisitesinden korunma amaçlı çalışmasında Aly ve Eid'i destekleyici sonuçlar elde etmişlerlerdir. Dönmez ve ark. selenyumun sisplatin

tedavisi sırasındaki yan etkilerinden korunma amacıyla yaptığı çalışmalarda sisplatin tedavisi alan gruptaki ratların ağırlığında kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı şekilde sisplatin alan grupta ağırlık kaybı olduğunu; fakat testis ağırlıkları açısından anlamlı bir fark göremediklerini belirtmişlerdir (83). Deligönül (139) tarafından yapılan propolisin, testisin sisplatin etkisinden korunması üzerinde yaptığı çalışma ve Whirlidge ve ark. (90) ghrelinin etkisini araştırdıkları çalışmada sadece sisplatin alan grupta kontrol grubuna oranla ratların ağırlıklarının istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha düşük olduğunu belirtmişlerdir. Abdel-Wahab ve ark. yaptıkları çalışmada sisplatin tedavisi sırasında tadalafil tedavisinin eşzamanlı verilmesi testis ağırlıklarında azalma olmadığını göstermişlerdir (129). Khalaf ve ark. uzun dönem tadalafil kullanılmasının testis üzerine etkilerini inceledikleri çalışmalarında 3 ay süre ile tadalafil verilen ratlarda kontrol grubu ile kıyaslandığında testis ağırlıklarında değişiklik saptamazken, 6 ay süre ile tadalafil verilen ratların testis ağırlıklarında kontrol grubuna kıyasla istatistiksel anlamlı ağırlık kaybı olduğunu belirtmişlerdir (101). Yiğitaslan ve ark. siklofosfamidin hemorajik sistit ve testiküler disfonksiyon yan etkilerinden korunmada tadalafil kullanımının testis ağırlığı farkı üzerinde istatistiksel anlamlı olarak etkili olmadığını gözlemlemişlerdir (9). Farombi ve ark. tetrasiklinin gonadotoksisitesinden korunma çalışmasında NAS verilen grupta tetrasiklin verilen gruba kıyasla kaybın daha az olduğunu belirtmişlerdir (140). Bizim çalışmamızda ratların vücut ağırlıkları değerlendirildiğinde çalışma sonunda en yüksek ağırlığa sahip olan grubun kontrol grubu olduğu görülmüş, sisplatin verilen grupta kontrol grubu ile kıyasla literatürde belirtildiği gibi vücut ağırlıklarında belirgin düşüklük izlenmiştir. Sisplatin tedavisinin yanında tadalafil verildiği zaman ise sisplatin grubu ile arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır. Çalışma başlangıcında sisplatin ve tadalafil grupları arasında vücut ağırlıklarında istatistiksel anlamlı fark gözlenmese de, çalışma sonrasında iki grup arasında istatistiksel anlamlı fark oluşturmayacak şekilde ağırlık farklarının azaldığı görülmüştür. Bu durum vücut ağırlığının korunmasında daha önceki çalışmalarda belirtildiği gibi tadalafilin etkili olabileceğini göstermiştir. Ratların testis ağırlıkları değerlendirildiğinde sisplatin grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel anlamlı fark görülmemiştir. Bu durumun nedeni sisplatin grubundaki ratların çalışma başlangıcında vücut ağırlıklarının istatistiksel olarak anlamlı olmasa

da diğer gruplardan bir miktar fazla olduğu ve bundan dolayı çalışma başlangıç ve sonundaki testis ağırlık farkı yüksek olsa bile tekrarlı testis ağırlıkları ölçümü yapılamadığından çalışmamızca gösterilememesi olarak düşünülmüştür. Tadalafil verilen grupta ise sisplatin grubu ile karşılaştırıldığında Yiğitaslan ve ark. belirttiği gibi istatistiksel anlamlı bir fark saptanmamıştır. Sisplatin+NAS ve sisplatin+tadalafil+NAS kombinasyon tedavisi verilen gruplarda benzer durum gözlenememiştir. Bu durumda daha önceki çalışmalarda antioksidan olduğu kanıtlanan NAS molekülünün bizim çalışmamızda dozun yeterli olmadığının, NAS dozu artırılarak yapılacak çalışmalarda NAS'ın literatürde belirtilen hem vücut ağırlığı açısından hem de testis ağırlığı açısından koruyucu etkilerini gösterebileceğine inanmaktayız.

Sisplatin'in testis dokusu üzerindeki histopatolojik ve biyokimyasal açıdan olumsuz etkileri daha önce pek çok araştırmacı tarafınca değerlendirilmişti. Histopatolojik etki açısından baktığımızda sisplatin tedavisi testisin normal anatomik yapısını bozmakta, seminifer tübüllerin düzenli hali kaybolmakta, leydig hücre sayısını azaltmakta, sertoli hücre aralarındaki sıkı bağlantılarının kaybolmakta ve tüm testis içerisinde genel morfolojik yapının kaybolmakta olduğu belirtilmektedir. Smart ve ark. prepubertal testiste düşük doz sisplatin verildiği zaman germ hücrelerinin tübül membranında ve tübül içerisinde görülebildiğini belirtmişlerdir. Fakat yüksek doz sisplatin sonrasında germ hücrelerini izlemenin çok zor olduğunu, piknotik hücrelerin rahatlıkla görülebildiğini, apoptozun ve sertoli cell only görülen tübül oranının belirgin şekilde arttığını, tübül genişliklerinin azaldığını belirtmişlerdir (141). Yılmaz ve ark. sisplatinin oksidatif etkisinden korunmak amacıyla antioksidan etkili amifostin ve melatonin kullanarak yaptıkları çalışmada sisplatin tedavisi Johnsen skorlarında kontrol grubuna oranla daha düşük bulunurken, amifostin ve melatonin tedavisi sonrası Johnsen skorlarının sadece sisplatin verilen gruba göre daha yüksek olduğunu belirtmişlerdir (142). Ceylan ve ark. (91) testis üzerinde sisplatinin yan etkisinden korunmak amaçlı kafeik asit verilmesi çalışmasında; Soni ve ark. (143) sisplatinin gonadotoksisitesinden korunmak amaçlı motiliperm verilmesi çalışmasında, Aydoğdu ve ark. (144) sisplatin gonadotoksisitesinden korunmak amaçlı kullandıkları ozon tedavisi ve Nna ve ark. (85) sisplatin gonadotoksisitesinden korunmak amaçlı terbutilhidrokinon verilmesi çalışmasında

sisplatin grubundaki Johnsen skorlarının kontrol grubuna oranla anlamlı şekilde daha düşük olduğunu göstererek Yılmaz ve ark.'ı destekleyici bulgu elde etmişlerdir. Literatürde daha önce siplatin tedavisinden sonra tadafil veya NAS kullanılarak Johnsen skorlarını değerlendiren çalışma bulunmazken; Ameli ve ark. (99), Yıldırım ve ark. (145), özmerdiven ve ark. (146) testiste torsiyon-detorsiyon modellemelerinde torsiyon ve detorsiyon sonrası testisteki oksidatif stresi artırdıklarını belirtmiş ve Johnsen skorunun kontrol grubunda en yüksek, torsiyon yapılan ardından tadafil verilen grubun sadece torsiyon yapılan gruba göre Johnsen skorlarının daha yüksek olduğunu belirtmişlerdir. Benzer alışma modelini Aktaş ve ark. (11) etken madde olarak tadafil yerine NAS kullanmışlar ve sonuçta torsiyon-detorsiyon grubundaki ratların Johnsen skorlarının NAS tedavisi ile daha da yükseldiğini belirtmişlerdir. Bir spermatogenez siklusu insanda 64 gün, ratlarda 12,5 gün sürmektedir (18)(112). Bizim alışmamızda ise Johnsen skorlarında gruplar arasında anlamlı fark izlenmemiştir. Bizim çalışmamızın 15 gün ve siplatin KT'si verildikten sonra 8. günde çalışmanın sonlandırılmasından dolayı tam bir spermatogenez siklusu tamamlanamadığını ve bu nedenden dolayı istatistiksel anlamlı fark görülmediğini düşünmekteyiz.

Testisin anatomik yapısını incelediğimizde siplatin tedavisi sonrasında testislerin yapısında değişimler görülmektedir. Siplatin seminifer tübüllerin normal yapısını bozmakta, tübüllerde tortioze yapı oluşturmakta, tübül duvarlarında spermatogenez sırasında oluşan çok katlı germinal hücre katmanı yapısında değişiklik gözlenmektedir. Kaya ve ark. siplatin tedavisi sonrasında β -glukan verdikleri çalışmada siplatin verilen grupta testiste vasküler konjesyon, germinal epitelin dökülmesi, interstisyel alanda ödem ve vakuoliazasyon artışı olduğunu gözlemlemişlerdir (147). Köroğlu ve ark. aposiyaninin siplatine bağlı oksidatif stresin oluşturduğu gonadotoksiteden korunma amaçlı çalışmasında siplatin verilen grupta kontrol grubuna kıyasla daha fazla tübülde regresyon ve dejenerasyon olduğunu belirtmişlerdir (148). Kohsaka ve ark. siplatin gonadotoksitesinden korunmada relaksin etkinliği değerlendirilmesi çalışmasında Kaya ve ark., Köroğlu ve ark. bulduğu sonuçlara ek olarak siplatin verilen gruptaki deneklerde seminifer tübül kalınlığında azalma olduğunu belirtmişlerdir (135). Yücel ve ark. siplatin tedavisinde all-trans retinoik asit'in etkinliği çalışmasında diğer

alışmalara ek olarak incelemede perivasküler fibrozisin túbüller arasındaki disorganizasyonun ve hyalinizasyonun arttığını belirtmişlerdir (149). Yiğitaslan ve ark. siklofosamid tedavisi sonrasında testiste hyalinize seminifer túbüller, túbül içerisinde debris ve sertoli hücresi hasarı gördüklerini ve tadalafil ile kombine edilen gruplardaki tadalafil doz bağımlı olarak dozu arttıķa normal histolojik yapıya daha benzer olduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca seminifer túbül duvar yüksekliğinin sisplatin verilen grupta azaldığını tadalafil verilen grupta yükseklik kaybının daha az olduğunu ve testiküler apoptozun tadalafil verilen grupta daha az olduğunu göstermişlerdir. (9). Güzelođlu ve ark. renal iskemi-reperfüzyon modeli çalışmasında renal iskemi olan grupta diffüz túbüler nekroz, hücre içinde vakuolizasyon artışı ve konjesyon gözlenirken tadalafil verildiğinde minimal konjesyon ve túbüler nekroz olduğu ve normal renal anatomiye daha benzer yapı görüldüğünü belirtmişlerdir (150). Anand ve ark. yaptığı çalışmada sisplatin verildiğinde testiste apoptotik marker yüksekliğinin bulunduğunu ve leydig hücrelerinde apoptoz ve disfonksiyonunun arttığını, NAS tedavisi verildiğinde ise leydig hücrelerinin bir miktar korunduğunu, fonksiyonlarında iyileşmeye gidildiğini ve apoptotik markerların düştüğünü belirtmişlerdir (151). Aktaş ve ark. iskemi-reperfüzyon hasarının neden olduğu oksidatif stresin testiste seminifer túbül genişliğini ve túbül kenarındaki germinal epitel duvar kalınlığını azalttığını; fakat erken dönemde NAS tedavisi verilmesinin hem túbül genişliği hem de duvar kalınlığında artışa neden olduğunu gözlemiş, aynı zamanda geç dönemde verilen NAS tedavisinin aynı etkiyi göstermediğini de vurgulamışlardır (11). Bizim alışmamızda testiküler histoloji değerlendirildiğinde kontrol grubundaki ratların beklenen en normal testiküler yapıya sahip olduğunu görmekteyiz. Sisplatin tedavisi alan gruptaki ratlarda ise dökülmüş piknotik çekirdekli germinal hücrelerin arttığını, seminifer túbüllerin birbirlerine daha yakın yerleşimli olduğunu ve seminifer túbül kalınlıklarının belirgin olarak azaldığını gözlemledik. Tadalafil verilen grupta sisplatinin testiküler yapı üzerindeki hasarı azalttığı izlenmekte olup piknotik seminifer túbül içerisine dökülen germinal hücre sayısının azaldığını, seminifer túbül duvar kalınlık kaybının azaldığını ve normal histolojik yapıya daha yakın bir histolojik yapıya sahip olduğunu gözledik. NAS monoterapisinin tek başına sisplatinin gonadotoksik etkisinden anlamlı bir şekilde korumadığı; fakat tadalafil ile beraber kombinasyon tedavisinin hem sisplatin

hem de tadalafil monoterapisi verilen gruplara göre oluşan gonadotoksik etkiden daha fazla koruduğu, normal histolojik yapıya daha benzer histolojik yapının mevcut olduğunu gördük. Ayrıca testiste apoptoz incelendiğinde sisplatin grubundaki ratların apoptotik indekslerinin kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı ve daha yüksek olduğunu izledik. Tek başına tadalafil ve NAS tedavisi verilen gruplarda apoptotik indeksler arasında anlamlı fark izlenmezken, tadalafil ve NAS kombinasyon tedavisi verilen grupta apoptotik indeksin sisplatin grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük olduğunu gözlemledik. Özellikle bu kombinasyon tedavisinin testis dokusu üzerinde sisplatin nedeniyle oluşan apoptozisi azalttığını gözlemledik. Bizim çalışmamızda gözlemlediğimiz histolojik değişiklikler ile literatürde görülen çalışmalara benzer sonuçlar elde edilmiştir.

Sisplatin leydig hücrelerini etkileyerek kan serum testosteron düzeylerini azaltır. Feed-back mekanizması ile LH yüksekliği olduğunu belirten yayınlar mevcuttur (152). Aynı zamanda sisplatin hipotalamus üzerine de etki ederek LH seviyesini düşürüp testosteron düşüklüğüne sebep olduğunu belirten yayınlar da mevcuttur. Kata çalışmasında sisplatin tedavisi alan ratlarda LH seviyelerinin düştüğünü belirtmiştir (153). Testosteronun, testis büyüklüğü ve spermatogenez devamlılığı için gerekli bir hormon olduğu bilinmektedir. Abdel-Wahab ve ark. tarafınca yapılan çalışmada sisplatin grubunun testosteron değerleri kontrol grubuna göre anlamlı daha az bulunmuşken, öncesinde tadalafil kullanılan grupta sisplatin kullanılan gruba göre kandaki testosteron seviyesinde düşme daha az görülmüştür (129). Yiğitaslan ve ark. siklofosfamidin testis üzerindeki yan etkilerini araştırdıkları çalışmalarında, tadalafil verilen gruplarda testosteron düzeylerini verilmeyen gruplara oranla daha yüksek olarak bulmuşlardır (9). Ameli ve ark. yaptığı iskemi ve reperfüzyon modeli çalışmasında tadalafil verilen gruptaki testosteron değerinin verilmeyen gruba göre istatistiksel anlamlı olarak daha yüksek olduğunu göstermişlerdir (99). Fung ve ark, Efstathiou ve ark yaptıkları çalışmalarda testiküler kanser yönetiminde KT tedavisinin geç dönem yan etkileri arasında testosteron seviyelerindeki düşüklükten dolayı seksüel disfonksiyon ve seksüel ilgisizlik oluşabileceğini ve bu nedenle gerekli görülmesi durumunda testosteron replasmanı yapılabileceğini belirtmişlerdir (154,155). Diğer yandan Tan ve ark. yaptıkları meta-analizde tadalafil kullanımının serum testosteron seviyesinde değişikliğe neden

olmadığını belirtmişlerdir (156). Literatürde sisplatin tedavisi sonrasında yan etkiden veya reaktif oksijen hasarından korunma amacıyla N-asetil sistein kullanılan ve kan testosteron düzeyi değerlendirilmesi yapılan çalışma bulunmamaktadır. Bizim çalışmamızda ise sisplatin tedavisi verilen grup ile kontrol grubu karşılaştırılmış ve sisplatin grubunda kan testosteron düzeylerinde belirgin düşüş izlenmiştir. Tadalafil verildiğinde ise istatistiksel anlamlı fark izlenmesi de kan testosteron düzeylerinin düşüşün azaldığı görülmektedir. Ayrıca Scipioni ve ark. (157) leydig hücrelerinde PDE5 reseptörleri olduğunu göstermişlerdir. Tadalafilin bu etkisinin bu reseptörler üzerinden leydig hücresinde cGMP artışına bağlı olarak ve tadalafilin leydig hücreleri üzerindeki oksidan etkisini azaltarak daha önce belirtilen çalışmaları destekleyecek şekilde kan testosteron düzeyini arttırdığını düşünmekteyiz. NAS monoterapisi verilen grupta ise kan testosteron seviyesinin sadece sisplatin verilen gruba göre daha düşük olduğunu gözlemledik. Sisplatin+NAS verilen gruptaki testis ağırlıklarının sisplatin grubuna göre düşük olduğunu düşünerek testosteron testis ağırlığı oranlarını değerlendirmek istedik. Oranlama yaparak değerlendirdiğimiz zaman hem NAS monoterapisinin hem de tadalafil+NAS kombinasyon tedavisinin testisin oransal olarak kana salgıladığı testosteron seviyesindeki düşüklüğü önlediğini gözlemledik. Bu da bize bu iki gruptaki ratların testis ağırlıkları düşük olduğu için kan testosteron seviyesinde düşüklük olduğunu ama oran değerlendirilmesi yapıldığında NAS tedavisinin sisplatinin üzerindeki oksidatif etkisini azalttığını düşündürmektedir.

Dasari ve ark. yaptığı çalışmasında, DNA hasarının yanı sıra sisplatin tarafından indüklenen oksidatif hasardan bahsetmektedir (1). Artan reaktif oksijen ürünleri direkt olarak mitokondri üzerinde etki göstererek membran potansiyelinin ve enerji üretiminin bozulmasına sebep olmaktadır. Ayrıca membranların üzerindeki lipidlerde peroksidasyona yol açarak membran bütünlüklerini bozmaktadır. Oksidatif stres günümüzde değişik markerlar aracılığı ile ölçülebilmektedir. Bunlar MDA, SOD, CAT ve GSH'dır (1). Sisplatin etkisi ile artan oksidatif stresten korunabilmek amacıyla pek çok molekül denenmiştir (3,6,83,90). Bizim çalışmamızda olduğu gibi 5PDi tedavisi verilen ve lipid peroksidasyonu son ürünü olarak MDA değerlendirilen çalışmalarda farklı sonuçlar elde edilmiştir. Tian ve ark. yaptığı çalışmasında sisplatin verilen ratlardaki lipid peroksidasyonunun kontrol grubuna göre daha

yüksek olduklarını gözlemlemişlerdir (6). Kılarkaje ve ark. (7), Türk ve ark. (4), Aksu ve ark. (3) benzer sonuçlar bulduklarını belirtmişlerdir. Shimizu ve ark. 5PDEi'lerin mitokondrial potasyum kanallarını açıp Ca^{++} 'un mitokondri içerisine girmesini önleyerek hücre ölümünü azalttıklarını gözlemlemişlerdir (158). Amari ve ark. torsiyon-detorsiyon modelindeki yaptıkları çalışmada tadalafil tedavisi verilen gruplarda doku MDA düzeyinin verilmeyen gruba göre daha düşük olduğunu fakat kontrol grubuna göre daha yüksek olduğunu belirtmişlerdir (99). Yıldırım ve ark.'nın yaptığı torsiyon-detorsiyon modelindeki çalışmada, Amari ve ark.'nın çalışmasını destekleyici sonuçlar elde etmişlerdir (145). Cırrık ve ark. ise tek taraflı üreter obstrüksiyonu uyguladıkları ratlara tek doz tadalafil verdikten 24 saat sonra ratları sakrifiye etmişler ve tadalafil verilen-verilmeyen gruplar arasında anlamlı bir MDA değişikliği olmadığını belirtmişlerdir (159). Dearakhshandeh ve ark. indüklenerek BPH oluşturulan köpeklerde tadalafil tedavisi verilmesinin MDA düzeyini azaltmadığını ve antioksidan enzim seviyesini artırmadıklarını göstermişlerdir (160). Diğer yandan Nna ve ark. 8 hafta boyunca ratlara sildenafil, tadalafil ve tramadol verdikleri çalışmada tedavi verilen tüm gruplardaki doku MDA seviyesinin kontrol grubuna daha yüksek olduğunu göstermişlerdir (161). Zaghlol ve ark. yaptıkları sildenafilin testis üzerindeki olumsuz etkilerden korunma amaçlı selenyum kullandıkları çalışmada kısa etkili PDE5i olan sildenafilin kullanımının ratlar üzerinde artmış oksidatif strese bağlı olarak testiküler yapıda dejenerasyon ve apoptoza yol açtığını belirtmişlerdir (162). Eid ve ark. ise yaptıkları çalışmada tadalafilin testis üzerindeki dejeneratif etkinin doz bağımlı olarak arttığını göstermişlerdir (163). Speranza ve ark. PDE5 inhibitörlerinin reaktif oksijen ürünlerinde artışa neden olduğunu gözlenmiş ve antioksidan maddelerden özellikle ferrositokrom c seviyesini düşürdüğünü ve antioksidan enzimlerin mükemmel olarak çalışmadıklarını göstermişlerdir (164). E-Abdalla ve ark. (165) sildenafilin testiküler doku üzerine etkilerini inceledikleri çalışmada ve Al-Fartosi (166) uzun dönem sildenafil kullanımının testis üzerine etkisini incelediği çalışmada seminifer tübüllerde sildenafilin testis parankiminde nekroza yol açtığını göstermişlerdir. Sisplatin verilmesi karaciğer HepG2 hücrelerinde MDA düzeylerini artırırken NAS tedavisi eklendiğinde MDA düzeylerini anlamlı olarak düşürdüğü Wang ve ark. (167) tarafından gösterilmişken; sisplatin+NAS tedavisinin testis dokusunda MDA

değerlendirilmesi amaçlı literatürde çalışma bulunmamıştır. Payabvash ve ark. ise yaptıkları torsiyon-detorsiyon model çalışmasında erken dönem NAS uygulanan grup doku MDA düzeylerinin tedavi almayan gruba göre daha düşük olduğunu ve geç dönem NAS verilen grupta anlamlı bir fark göremediklerini belirtmişlerdir (168). Çay ve ark. yaptığı torsiyon-detorsiyon modelinde NAS tedavisinin doku MDA seviyesini anlamlı olarak düşürdüğünü göstermiştir (169). Mansour ve ark. yaptığı bleomisin tarafından indüklenen oksidatif hasar ve fibrozis modeli çalışmasında NAS tedavisinin oksidan maddelerin azalmasına ve antioksidan maddelerin artışına bağlı olarak akciğerdeki doku MDA seviyesini düşürdüğünü gözlemlemiştir (109). Tarladaçalışır ve ark. yaptığı akciğer künt travma modelinde travmanın akciğer dokusunda MDA düzeylerini yükselttiği ve öncesinde NAS tedavisinin verilmesi doku MDA düzeylerini düşürdüğü gözlenmiştir (170). Bizim çalışmamızdaki MDA sonuçları değerlendirildiğinde sisplatin tedavisi verilmesi literatüre benzer şekilde kontrol grubuna oranla belirgin bir şekilde MDA seviyesinde artışa neden olurken daha önce antioksidan etkisi olduğu bilinen tadalafil eklenmesi testiste istatistiksel anlamlı olmasa da MDA seviyesinde artış yaptığı görülmüştür. Bu durumun nedeni Sperenza ve ark. belirttiği gibi reaktif oksijen ürünlerinde artışa neden olduğu ve antioksidan enzimlerin beklenen kapasitede çalışmamasından kaynaklandığını düşünmekteyiz. NAS tedavisi verilen grupta ise sisplatin grubuna oranla istatistiksel anlamlı düşme görülme de MDA düzeyini azalttığını görmekteyiz. Bu durum NAS tedavisinin sisplatine bağlı oksidatif etkileri ve lipid peroksidasyonunu azalttığını tarafımıza göstermektedir. İstatistiksel anlamlı fark görülme de literatürdeki diğer çalışmalarla benzer sonuçları olduğunu gözlemlemekteyiz. Sisplatin+tadalafil+NAS tedavisi verilen grupta doku MDA testis ağırlık oranı incelendiğinde hem tadalafil hem de NAS monoterapisi verilen gruplardan istatistiksel anlamlı fark oluşturmayacak şekilde daha düşük olduğunu gözlemledik. Bu durum bize kombinasyon tedavisinin testisteki birim gram başına üretilen MDA düzeylerini düşürdüğünü göstermektedir.

6. SONUÇLAR

Çalışmamızda tadalafil+NAS kombinasyonu ile sisplatinin oluşturduğu histopatolojik değişikliklerin engellenebildiği ve doku ağırlığı birim başına kan testosteron seviyesindeki düşüklüğün önlenebildiğini tespit ettik. Ancak doku MDA düzeyleri üzerine istatistiksel olarak anlamlı bir katkı elde edemedik. Çalışmamızın en önemli limitasyonu diğer peroksidasyon son ürünleri olan SOD, CAT, GSH gibi oksidatif stres ile ilgili diğer tüm molekülleri değerlendirememiş olmamızdır. Maliyet burada belirleyici olmuştur. Tüm bu diğer belirteçlerle beraber değerlendirildiğinde daha anlamlı sonuçlar elde edilebileceğine inanmaktayız. Bunun yanında sperm üretiminin en önemli göstergesi olan testis doku histolojisi ve apoptozisi ayrıntılı olarak irdelleyebildiğimizi düşünmekteyiz. Gerek testis tümörü gerek diğer maligniteler nedeniyle sisplatin KT'si alan ve fertilitenin korunması amaçlanan erkek hastalarda tadalafil ve NAS gibi antioksidan maddelerin kullanımının günlük yaşantımıza yansıyabilecek faydalı bazı net sonuçları olmuştur. Ancak daha fazla denek sayısı ile yapılacak hayvan deneyleri veya klinik çalışmalar konuya olumlu katkılar sağlayacaktır.

KAYNAKLAR

1. Shaloam D, Tchounwou PB. Cisplatin in cancer therapy: Molecular mechanisms of action. *Eur J Pharmacol.* 2014;740:364–78.
2. Kelland L. cancer chemotherapy. 2007;7(July):573–84.
3. Aksu EH, Kandemir FM, Özkaraca M, Ömür AD, Küçükler S, Çomaklı S. Rutin ameliorates cisplatin-induced reproductive damage via suppression of oxidative stress and apoptosis in adult male rats. *Andrologia.* 2017;49(1):1–8.
4. Türk G, Ateşşahin A, Sönmez M, Çeribaşı AO, Yüce A. Improvement of cisplatin-induced injuries to sperm quality, the oxidant-antioxidant system, and the histologic structure of the rat testis by ellagic acid. *Fertil Steril.* 2008;89(5 SUPPL.):1474–81.
5. Shati AA. Resveratrol improves sperm parameter and testicular apoptosis in cisplatin-treated rats: Effects on ERK1/2, JNK, and Akt pathways. *Syst Biol Reprod Med* [Internet]. 2019;65(3):236–49. Available at: <https://doi.org/10.1080/19396368.2018.1541114>
6. Tian M, Liu F, Liu H, Zhang Q, Li L, Hou X, et al. Grape seed procyanidins extract attenuates Cisplatin-induced oxidative stress and testosterone synthase inhibition in rat testes. *Syst Biol Reprod Med* [Internet]. 2018;64(4):246–59. Available at: <https://doi.org/10.1080/19396368.2018.1450460>
7. Kılarkaje N, Mousa AM, Al-Bader MM, Khan KM. Antioxidants enhance the recovery of three cycles of bleomycin, etoposide, and cisplatin-induced testicular dysfunction, pituitary-testicular axis, and fertility in rats. *Fertil Steril* [Internet]. 2013;100(4):1151-1159.e5. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2013.06.019>
8. Teymouri Rad R, Dadashzadeh S, Vatanara A, Alavi S, Ghasemian E, Mortazavi SA. Tadalafil nanocomposites as a dry powder formulation for inhalation, a new strategy for pulmonary arterial hypertension treatment. *Eur J Pharm Sci* [Internet]. 2019;133(March):275–86. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2019.04.001>
9. Yigitaslan S, Ozatik O, Ozatik FY, Erol K, Sirmagul B, Baseskioglu AB. Effects of tadalafil on hemorrhagic cystitis and testicular dysfunction induced by cyclophosphamide in rats. *Urol Int.* 2014;93(1):55–62.
10. Kostakis ID, Zavras N, Damaskos C, Sakellariou S, Korkolopoulou P, Misiakos EP, et al. Erythropoietin and sildenafil protect against ischemia/reperfusion injury following testicular torsion in adult rats. *Exp Ther Med.* 2017;13(6):3341–7.
11. Aktaş BK, Bulut Ş, Bulut S, Baykam MM, Özden C, Şenes M, et al. The effects of N-acetylcysteine on testicular damage in experimental testicular ischemia/reperfusion injury. *Pediatr Surg Int.* 2010;26(3):293–8.

12. Ghoreifi A, Djaladat H. Management of Primary Testicular Tumor. *Urol Clin North Am* [Internet]. 2019;46(3):333–9. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.ucl.2019.04.006>
13. Smith ZL, Werntz RP, Eggener SE. Testicular Cancer: Epidemiology, Diagnosis, and Management. *Med Clin North Am* [Internet]. 2018;102(2):251–64. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.mcna.2017.10.003>
14. Owen CA. The Scrotum. İçinde: *Textbook of Diagnostic Sonography* [Internet]. Elsevier; 2012. s. 604–28. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780323073011000234>
15. Harrison RG, Barclay AE. the Distribution of the Testicular Artery (Internal Spermatic Artery) To the Human Testis. *Br J Urol*. 1948;20(2):57–66.
16. Partin AW, Dmochowski RR, Kavoussi LR PC, editör. *Campbell-Walsh-Wein Urology*. Twelfth Ed. Elsevier; 2020. 6334–6346 s.
17. Eroschenko VP. di Fiore Histoloji Atlası-Fonksiyonel İlişkileriyle. 9.Baskı. Demir R, editör. Palme Yayıncılık; 2001.
18. Junqueira LC, Carneiro J, Kelley RO. *Temel Histoloji*. Eighth Edi. Aytekin Y, editör. Barış Kitapevi;
19. Kathrins M, Niederberger C. Diagnosis and treatment of infertility-related male hormonal dysfunction. *Nat Rev Urol* [Internet]. 2016;13(6):309–23. Available at: <http://dx.doi.org/10.1038/nrurol.2016.62>
20. Kumar B. *Histology Text & Atlas* [Internet]. 2013. s. 392. Available at: www.wolterskluwerindia.co.in/%0Ahistology.by.brijesh@gmail.com
21. Johnsen SG. Testicular Biopsy Score Count- A Method for Registration of Spermatogenesis in Human Testes: Normal Values and Results in 334 Hypogonadal Males.
22. Ulrich W. Sobotta Histoloji. 5.Baskı. Tekelioğlu M, editör. Sobotta Histoloji. Beta A.Ş.; 1999.
23. Larney C, Bailey TL, Koopman P. Switching on sex : transcriptional regulation of the testis-determining gene Sry. 2014;2195–205.
24. Ledbetter DJ, Johnson PRV. Endocrine surgery in children. *Endocr Surg Child*. 2017;1–462.
25. Seftalioglu A. Genel ve Özel İnsan Embriyolojisi. Dördüncü B. Genel ve Özel İnsan Embriyolojisi. Tıp Teknik Yayıncılık; 2003. 354–360 s.
26. Sadler TW. *Langman's Medikal Embriyoloji*. Yedinci Ba. Palme Yayıncılık; 1996. 272–293 s.
27. Gilligan T, Lin DW, Aggarwal R, Chism D, Cost N, Derweesh IH, et al. Testicular cancer, version 2.2020. *JNCCN J Natl Compr Cancer Netw*. 2019;17(12):1529–54.
28. Purdue MP, Devesa SS, Sigurdson AJ, McGlynn KA. International patterns and trends in testis cancer incidence. *Int J Cancer*. 2005;115(5):822–7.
29. Khan O, Protheroe A. Testis cancer. *Postgrad Med J*. 2007;83(984):624–32.

30. Garner MJ, Turner MC, Ghadirian P, Krewski D. Epidemiology of testicular cancer: An overview. *Int J Cancer*. 2005;116(3):331–9.
31. Shanmugalingam T, Soultati A, Chowdhury S, Rudman S, Van Hemelrijck M. Global incidence and outcome of testicular cancer. *Clin Epidemiol*. 2013;5(1):417–27.
32. Lee YJ, Shacter E. Oxidative stress inhibits apoptosis in human lymphoma cells. *J Biol Chem*. 1999;274(28):19792–8.
33. Batata MA, Chu FCH, Hilaris BS, Whitmore WF, Golbey RB. Testicular cancer in cryptorchids. *Cancer*. 1982;49(5):1023–30.
34. Gilligan T. Testis cancer: Rare, but curable with prompt referral. *Cleve Clin J Med*. 2007;74(11):817–25.
35. Chaganti RSK, Houldsworth J. Genetics and biology of male germ cell tumors. *Chest Surg Clin N Am*. 2002;12(4):629–43.
36. Rothman KJ, Louik C. Oral Contraceptives and Birth Defects. *N Engl J Med*. 1978;299:522–4.
37. Henderson BE, Benton B, Jing J, Yu MC, Pike MC. Risk Factors for Cancer of the Testis. *Int J Cancer*. 1979;598–602.
38. Rashid HH, Cos LR, Weinberg E, Messing EM. Testicular microlithiasis : a review and its association with testicular cancer. 2004;22:285–9.
39. Rukstalis DB. Molecular mechanisms of testicular carcinogenesis. *World J Urol*. 1996;14:347–52.
40. Laguna MP, Albers P, Algaba F, Bokemeyer C, Boormans JL, Fischer S, et al. EAU guidelines on testicular cancer. *Eur Urol*. 2020;
41. Albers P, Albrecht W, Algaba F, Bokemeyer C, Cohn-Cedermark G, Fizazi K, et al. EAU guidelines on testicular cancer: 2011 update. *Eur Urol*. 2011;60(2):304–19.
42. Gilligan TD, Seidenfeld J, Basch EM, Einhorn LH, Fancher T, Smith DC, et al. American society of clinical oncology clinical practice guideline on uses of serum tumor markers in adult males with germ cell tumors. *J Clin Oncol*. 2010;28(20):3388–404.
43. Richie JP, D’Amico AV. Testis tumors: Diagnosis and staging. *Urol Oncol*. 2005;567–76.
44. Mencil PJ, Motzer RJ, Mazumdar M, Vlamis V, Bajorin DF, Bosl GJ. Advanced seminoma: Treatment results, survival, and prognostic factors in 142 patients. *J Clin Oncol*. 1994;12(1):120–6.
45. Koshida K, Uchibayashi T, Yamamoto H, Hirano K. Significance of placental alkaline phosphatase (FLAP) in the monitoring of patients with seminoma. *Br J Urol*. 1996;77(1):138–42.
46. Hain SF, Maisey MN. Positron emission tomography for urological tumours. *BJU Int*. 2003;92(2):159–64.

47. Stephens AW, Gonin R, Hutchins GD, Einhorn LH. Positron emission tomography evaluation of residual radiographic abnormalities in postchemotherapy germ cell tumor patients. *J Clin Oncol*. 1996;14(5):1637–41.
48. Ulbright TM. The most common, clinically significant misdiagnoses in testicular tumor pathology, and how to avoid them. *Adv Anat Pathol*. 2008;15(1):18–27.
49. Ulbright TM. Germ cell tumors of the gonads: A selective review emphasizing problems in differential diagnosis, newly appreciated, and controversial issues. *Mod Pathol*. 2005;18(SUPPL. 2):61–79.
50. Moch H, Cubilla AL, Humphrey PA, Reuter VE, Ulbright TM. The 2016 WHO Classification of Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs—Part A: Renal, Penile, and Testicular Tumours. *Eur Urol* [Internet]. 2016;70(1):93–105. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.eururo.2016.02.029>
51. Amin M, Tickoo S, McKenney J, Paner, Shen, Smith, et al. *Diagnostic Pathology: Genitourinary*. Second Edi. AMIRSYS, Elsevier; 2016. 748–905 s.
52. Jacobsen GK, Barlebo H, Olsen J, Schultz HP, Starklint H, Søgaaard H, et al. Testicular germ cell tumours in Denmark 1976-1980 pathology of 1058 consecutive cases. *Acta Oncol (Madr)*. 1984;23(4):239–47.
53. Özen H, Türkeri L. *Üroonkoloji*. Birinci Ba. Ertem Basım Yayın; 2007. 1065–1110 s.
54. Howitt BE, Berney DM. Tumors of the Testis: Morphologic Features and Molecular Alterations. *Surg Pathol Clin* [Internet]. 2015;8(4):687–716. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.path.2015.07.007>
55. Talerman A, Haije WG, Baggerman L. Serum alphafetoprotein (AFP) in patients with germ cell tumors of the gonads and extragonadal sites: Correlation between endodermal sinus (yolk sac) tumor and raised serum AFP. *Cancer*. 1980;46(2):380–5.
56. Ulbright TM, Berney DM. Testicular and Paratesticular Tumors. İçinde: Mills SE, editör. *Stenberg's Diagnostic Surgical Pathology*. 6th editio. 2016. s. 2191–260.
57. Brosman SA. Testicular tumors in prepubertal children. *Urology*. 1979;13(6):581–8.
58. Jones TD, Wang M, Sung MT, Zhang S, Ulbright TM, Eble JN, et al. Clonal origin of metastatic testicular teratomas. *Clin Cancer Res*. 2006;12(18):5377–83.
59. Eble JN. Spermatocytic seminoma. *Pathol Case Rev*. 2005;10(4):176–80.
60. Schwarzman MI, Russo P, Bosl GJ, Whitmore WF. Hormone-secreting metastatic interstitial cell tumor of the testis. *J Urol* [Internet]. 1989;141(3 I):620–2. Available at: [http://dx.doi.org/10.1016/S0022-5347\(17\)40917-7](http://dx.doi.org/10.1016/S0022-5347(17)40917-7)

61. Rutgers JL, Young RH, E. SR. The Testicular “Tumor” of the Adrenogenital Syndrome: A Report of Six Cases and Review of the Literature on Testicular Masses in Patients with Adrenocortical Disorders. *Am J Surg Pathol*. 1988;12(7):503–13.
62. M N, R L, Panigua R. Testicular granulosa cell tumor of the adult type. *Arch Pathol Lab Med*. 1992;116(3):284–7.
63. Shahab N, Doll DC. Testicular Lymphoma. *Semin Oncol*. 1999;26(3):259–69.
64. Brierley JD, Gospodarowicz MK, Wittekind C. Urological Tumors. İçinde: UICC :TNM Classification of Malignant Tumours. 8th editio. Chichester, West Sussex, UK: Wiley-Blackwell; 2017. s. 196–8.
65. Edge SB, Byrd DR, Carducci MA, Compton CC, Fritz AG, Greene FL, et al. AJCC Cancer Staging Manuel. İçinde: AJCC Cancer Staging Manuel. 7th baskı New York: NY: Springer; 2010.
66. International Germ Cell Consensus Classification : A Prognostic Factor-Based Staging System for Metastatic Germ Cell Cancers. *J Clin Oncol*. 1997;15:594–603.
67. Kollmannsberger C, Tyldesley S, Moore C, Chi KN, Murray N, Daneshmand S, et al. Evolution in management of testicular seminoma : population-based outcomes with selective utilization of active therapies. *Ann Oncol* [Internet]. 2011;22:808–14. Available at: <http://dx.doi.org/10.1093/annonc/mdq466>
68. Carver BS, Sheinfeld J. Germ Cell Tumors of the Testis. 2005;12(11):871–80.
69. Gilligan T, Kantoff PW. Testis Cancer. İçinde: Chang AE, Hayes DF, Pass HI, Stone RM, Ganz PA, Kinsella TJ, et al., editörler. *Oncology, An Evidence-Based Approach*. Springer, New York, NY; 2006. s. 851–80.
70. Fossa S, Horwich A, Russell J, Roberts J, Cullen M, Hodson N, et al. Optimal Planning Target Volume for Stage I Testicular Seminoma: A Medical Research Council Randomized Trial. 1999;17:1146–54.
71. Livsey JE, Taylor B, Mobarek N, Cooper RA, Carrington B, Logue JP. Patterns of Relapse Following Radiotherapy for Stage I Seminoma of the Testis: Implications for Follow-up. *Clin Oncol*. 2001;13:296–300.
72. Warszawski N, Schmücking M. Relapses in Early-stage Testicular Seminoma: Radiation Therapy versus Retroperitoneal Lymphadenectomy Relapses in Early-stage Testicular Seminoma : Radiation Therapy versus Retroperitoneal Lymphadenectomy. *Scand J Urol Nephrol*. 1997;31(4):355–9.
73. Mead GM, Fossa SD, Oliver RTD, Joffe JK, Huddart RA, Roberts JT, et al. Randomized Trials in 2466 Patients With Stage I Seminoma : Patterns of Relapse and Follow-up. *J Natl Cancer Inst*. 2011;103:241–9.

74. Groll RJ, Warde P, Jewett MAS. A comprehensive systematic review of testicular germ cell tumor surveillance. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2007;64:182–97.
75. Rabbani F, Sheinfeld J, Farivar-Mohseni H, Leon A, Rentzepis MJ, Reuter VE, et al. Low-Volume Nodal Metastases Detected at Retroperitoneal Lymphadenectomy for Testicular Cancer: Pattern and Prognostic Factors for Relapse. *J Clin Oncol*. 2001;19:2020–5.
76. Stephenson AJ, Bosl GJ, Bajorin DF, Stasi J, Motzer RJ, Sheinfeld J. Retroperitoneal Lymph Node Dissection in Patients with Low Stage Testicular Cancer with Embryonal Carcinoma Predominance and/or Lymphovascular Invasion. *J Urol*. 2005;174(August):557–60.
77. Williams SD, Stablein DM, Einhorn LH, Muggia FM, Weiss RB, Donohue JP, et al. Immediate Adjuvant Chemotherapy Versus Observation with Treatment at Relapse in Pathological Stage II Testicular Cancer. *N Engl J Med*. 1987;317:1433–8.
78. Donohue JP, Thornhill JA, Foster RS, Bihle R, Rowland G, Einhorn LH. The Role of Retroperitoneal Lymphadenectomy in Clinical Stage B Testis Cancer: The Indiana University Experience (1965 to 1989). *J Urol*. 1995;153:85–9.
79. Weissbach L, Bussar-Maatz R, Flechtner H, Pichlmeier U, Hartmann M, Keller L. RPLND or Primary Chemotherapy in Clinical Stage IIA/B Nonseminomatous Germ Cell Tumors? *Eur Urol*. 2000;37:582–94.
80. Steyerberg EW, Keizer HJ, Fossa SD, Sleijfer DT, Toner GC, Koops HS, et al. Prediction of Residual Retroperitoneal Mass Histology After Chemotherapy for Metastatic Nonseminomatous Germ Cell Tumor: Multivariate Analysis of Individual Patient Data From Six Study Groups. *J Clin Oncol*. 1995;13:1177–87.
81. Wit R de, Stoter G, Sleijfer D, Neijt JP, Huinink W ten B, Prijck L de, et al. Four cycles of BEP vs four cycles of VIP in patients with intermediate-prognosis metastatic testicular non-seminoma : a randomized study of the EORTC Genitourinary Tract Cancer Cooperative Group. *Br J Cancer*. 1998;78(6):828–32.
82. Dijk MR Van, Steyerberg EW, Habbema JDF. Survival of non-seminomatous germ cell cancer patients according to the IGCC classification : An update based on meta-analysis. *Eur J Cancer*. 2006;42(7):820–6.
83. Donmez DB, Bozdoğan S. Effect of sodium selenite on testicular damage induced by Cisplatin in adult male rats. *Biol Med*. 2014;6(3):1–4.
84. Schardt J, Roth B, Seiler R. Forty years of cisplatin-based chemotherapy in muscle-invasive bladder cancer: are we understanding how, who and when? *World J Urol* [Internet]. 2019;37(9):1759–65. Available at: <https://doi.org/10.1007/s00345-018-2544-8>

85. Nna VU, Ujah GA, Suleiman JB, Mohamed M, Nwokocha C, Akpan TJ, et al. Tert-butylhydroquinone preserve testicular steroidogenesis and spermatogenesis in cisplatin-intoxicated rats by targeting oxidative stress, inflammation and apoptosis. *Toxicology* [Internet]. 2020;441(June):152528. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.tox.2020.152528>
86. Wilmes A, Bielow C, Ranninger C, Bellwon P, Aschauer L, Limonciel A, et al. Toxicology in Vitro Mechanism of cisplatin proximal tubule toxicity revealed by integrating transcriptomics , proteomics , metabolomics and biokinetics. *Toxicol Vitro* [Internet]. 2014; Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tiv.2014.10.006>
87. Pabla N, Dong Z. Cisplatin nephrotoxicity: Mechanisms and renoprotective strategies. *Kidney Int*. 2008;73(9):994–1007.
88. Tarladacalisir YT, Kanter M, Uygun M. Protective Effects of Vitamin C on Cisplatin-Induced Renal Damage : A Light and Electron Microscopic Study. 2008;1–8.
89. Gersten BK, Fitzgerald TS, Fernandez KA, Cunningham LL. Ototoxicity and Platinum Uptake Following Cyclic Administration of Platinum-Based Chemotherapeutic Agents. 2020;
90. Whirledge SD, Garcia JM, Smith RG, Lamb DJ. Ghrelin Partially Protects Against Cisplatin-Induced Male Murine Gonadal Toxicity in a GHSR- 1a-Dependent Manner. 2015;
91. Tayfun C, Emin K, Fazile C, Birkan Y. Researches on the protective effect of caffeic acid phenethyl ester on testicular damage caused by cisplatin. *Turk J Med Sci* . 2020;1–20.
92. A.A. Aly H, G. Eid B. Cisplatin induced testicular damage through mitochondria mediated apoptosis, inflammation and oxidative stress in rats: impact of resveratrol. *Endocr J*. 2020;
93. Yadav YC. Effect of cisplatin on pancreas and testies in Wistar rats : biochemical parameters and histology. *Heliyon* [Internet]. 2019;5(November 2018):e02247. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e02247>
94. Başar M, Bal F. Erektile Disfonksiyonun Medikal Tedavisinde Fosfodiesteraz Tip 5 İnhibitörlerinin Günümüzdeki Yeri Current Status of Phosphodiesterase Type 5 Therapy in the Medical Treatment of Erectile Dysfunction. 2010;85–91.
95. Mihai A, Maria A, Albulescu D, Vasile C, Mitrut R, Georgiadis G, et al. Phosphodiesterase-5 inhibitors ameliorate structural kidney damage in a rat model of contrast-induced nephropathy. *Food Chem Toxicol* [Internet]. 2020;143(May):111535. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2020.111535>
96. Shimizu S, Nagao Y, Kataoka T, Kamada S, Shimizu T, Higashi Y, et al. Protective effects of tadalafil on prostatic hyperplasia in spontaneously hypertensive rats. *Eur J Pharmacol* [Internet]. 2020;173313. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2020.173313>
97. Wang T, Liu Y, Chen L, Wang X, Xu D, Lin J. Effect of sildenafil on acrolein-induced airway inflammation and mucus production in rats. 2009;33(5):1122–32.

98. Karagu AE. Effect of phosphodiesterase 5 inhibitors on apoptosis and nitric oxide synthases in testis torsion : an experimental study. 2008;205–11.
99. Ameli M, Shokoohi M. Protective effect of tadalafil and verapamil on testicular function and oxidative stress after torsion / detorsion in adult male rat. 2018;(December 2017):1–8.
100. Kim NN. Phosphodiesterase type 5 inhibitors: A biochemical and clinical correlation survey. *Int J Impot Res*. 2003;15(April):S13–9.
101. Khalaf MAM, Abbas MF, El-Fakahany HM. Effects of chronic tadalafil use on the testes and sperm parameters of old albino rats. *Andrologia*. 2012;44(SUPPL.1):370–5.
102. Hellstrom WJG, Overstreet JW, Yu A, Saikali K, Shen W, Beasley CM, et al. Tadalafil has no detrimental effect on human spermatogenesis or reproductive hormones. *J Urol*. 2003;170(3):887–91.
103. Demchenko IT, Ruehle A, Allen BW, Vann RD, Piantadosi CA. Phosphodiesterase-5 inhibitors oppose hyperoxic vasoconstriction and accelerate seizure development in rats exposed to hyperbaric oxygen. *J Appl Physiol*. 2009;106(4):1234–42.
104. Zucchi A, Costantini E, Scropo FI, Silvani M, Kopa Z, Illiano E, et al. The first-generation phosphodiesterase 5 inhibitors and their pharmacokinetic issue. *Andrology*. 2019;7(6):804–17.
105. Šalamon Š, Kramar B, Marolt TP, Poljšak B, Milisav I. Medical and dietary uses of n-acetylcysteine. *Antioxidants*. 2019;8(5):1–16.
106. Oliveira VA, Souza N De, Mesquita M, Pedroso TF. Mercury toxicity in pregnant and lactating rats : zinc and N -acetylcysteine as alternative of prevention. 2020;
107. Isbister GK, Chiew A. The changing face of paracetamol toxicity and new regimens for an old antidote acetylcysteine. 2020;(March):2–3.
108. Ezeriņa D, Takano Y, Hanaoka K, Urano Y, Dick TP. N-Acetyl Cysteine Functions as a Fast-Acting Antioxidant by Triggering Intracellular H₂S and Sulfane Sulfur Production. *Cell Chem Biol*. 2018;25(4):447-459.e4.
109. Omacini M, Eggers T, Bonkowski M, Gange AC, Jones TH, Campus SP, et al. Modulation of Bleomycin-induced oxidative stress and pulmonary fibrosis by N-acetylcysteine in Rats via AMPK/SIRT1/ NF- κ B. 2020;4453(1417):3–6.
110. Ryu CM, Shin JH, Yu HY, Ju H, Kim S, Lim J, et al. N-acetylcysteine prevents bladder tissue fibrosis in a lipopolysaccharide-induced cystitis rat model. *Sci Rep [Internet]*. 2019;9(1):1–11. Available at: <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-019-44631-3>
111. Schauble AL, Bisaccia EK, Lee G, Nasr SZ. N-acetylcysteine for management of distal intestinal obstruction syndrome. *J Pediatr Pharmacol Ther*. 2019;24(5):390–7.
112. Gonzales GF, Nieto J, Rubio J, Gasco M. Effect of Black maca (*Lepidium meyenii*) on one spermatogenic cycle in rats. *Andrologia*. 2006;38(5):166–72.

113. du Sert NP, Hurst V, Ahluwalia A, Alam S, Avey MT, Baker M, et al. The arrive guidelines 2.0: Updated guidelines for reporting animal research. *PLoS Biol.* 2020;18(7):1–12.
114. Mahran YF. Suppression of Cisplatin-Induced Hepatic Injury in Rats Through Alarmin High-Mobility Group Box-1 Pathway by *Ganoderma lucidum* : Theoretical and Experimental Study. 2020;2335–53.
115. El-gizawy MM, Hosny EN. Curcumin nanoparticles ameliorate hepatotoxicity and nephrotoxicity induced by cisplatin in rats. 2020;
116. Abdel-daim MM, Abdel-rahman HG, Dessouki AA, El-far AH, Khodeer DM, Bin-jumah M, et al. Science of the Total Environment Impact of garlic (*Allium sativum*) oil on cisplatin-induced hepatorenal biochemical and histopathological alterations in rats. 2020;710.
117. Pınar N, Çakırca G, Hakverdi S, Kaplan M. Protective effect of alpha lipoic acid on cisplatin induced hepatotoxicity in rats. *Biotech Histochem* [Internet]. 2019;00(00):1–6. Available at: <https://doi.org/10.1080/10520295.2019.1667025>
118. Kandeil MA, Gomaa SB, Mahmoud MO. The effect of some natural antioxidants against cisplatin-induced neurotoxicity in rats: behavioral testing. *Heliyon* [Internet]. 2020;6(August):e04708. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e04708>
119. Kandeil MA, Mahmoud MO, Abdel-razik AH, Gomaa SB. Thymoquinone and geraniol alleviate cisplatin-induced neurotoxicity in rats through downregulating the p38 MAPK / STAT-1 pathway and oxidative stress. *Life Sci* [Internet]. 2019;228(January):145–51. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2019.04.065>
120. Bayrak S, Aktas S. Antioxidant effect of against cisplatin-induced cardiotoxicity. 2020;
121. Zhao L. Protective effects of trimetazidine and coenzyme Q10 on cisplatin-induced cardiotoxicity by alleviating oxidative stress and mitochondrial dysfunction. 2019;(419):232–9.
122. Sherif IO, Al-mutabagani LA, Alnakhl AM, Sobh MA, Mohammed HE. Renoprotective effects of angiotensin receptor blocker and stem cells in acute kidney injury : Involvement of inflammatory and apoptotic markers. 2015;1572–9.
123. Lazaro JA, Humanes B, Lazaro A, Camano S, Lara JM, Ortiz A, et al. Cilastatin protects against cisplatin-induced nephrotoxicity without compromising its anticancer efficiency in rats. 2012;652–63.
124. Zhang J, Jian-qiang W, Xu X, Yang J, Wang Z, Jiang S, et al. Red Gingseng Protects against Cisplatin-induced Intestinal Toxicity by Inhibiting Apoptosis and Autophagy via PI3K/AKT Signaling Pathways. 2020. 0–34 s.
125. Shahid F, Farooqui Z, Khan F. Cisplatin-induced gastrointestinal toxicity: An update on possible mechanisms and on available gastroprotective strategies. *Eur J Pharmacol* [Internet]. 2018; Available at: <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2018.03.009>

126. Ando H, Mochiki E, Ohno T, Yanai M, Toyomasu Y, Ogata K, et al. Mechanism of gastrointestinal abnormal motor activity induced by cisplatin in conscious dogs. 2014;20(42):15691–702.
127. Pini A, Garella R, Idrizaj E, Calosi L, Baccari MC, Vannucchi MG. Glucagon-like peptide 2 counteracts the mucosal damage and the neuropathy induced by chronic treatment with cisplatin in the mouse gastric fundus. *Neurogastroenterol Motil*. 2016;28(2):206–16.
128. Sukhu T, Ross S, Coward RM. Urological Survivorship Issues Among Adolescent Boys and Young Men Who Are Cancer Survivors. *Sex Med Rev* [Internet]. 2018; Available at: <https://doi.org/10.1016/j.sxmr.2017.12.007>
129. Abdel-wahab BA, Alkahtani SA, Elagab EAM. Tadalafil alleviates cisplatin-induced reproductive toxicity through the activation of the Nrf2/HO-1 pathway and the inhibition of oxidative stress and apoptosis in male rats. *Reprod Toxicol* [Internet]. 2020; Available at: <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2020.06.015>
130. Howell SJ, Shalet SM. Spermatogenesis after cancer treatment: damage and recovery. *J Natl Cancer Inst Monogr*. 2005;(34):12–7.
131. Wang T, Lai Y, Yang K, Lin S, Chen C. Counteracting Cisplatin-Induced Testicular Damages by Natural Polyphenol Constituent Honokiol. 2020;(11):1–21.
132. Prasad R, Prasad SB. Histoprotective effect of rutin against cisplatin-induced toxicities in tumor-bearing mice: Rutin lessens cisplatin-induced toxicities. *Hum Exp Toxicol*. 2020;
133. Aboul-naga AM, Hamam ET, Awadalla A, Shokeir AA. The Protective role of l-carnitine on spermatogenesis after cisplatin treatment during prepubertal period in rats: A pathophysiological study. *Life Sci* [Internet]. 2020; Available at: <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2020.118242>
134. Allen CM, Lopes F, Mitchell RT, Spears N. Comparative gonadotoxicity of the chemotherapy drugs cisplatin and carboplatin on prepubertal mouse gonads. 2020;26(3):129–40.
135. Kohsaka T, Minagawa I, Morimoto M, Yoshida T, Sasanami T, Yoneda Y, et al. Efficacy of relaxin for cisplatin-induced testicular dysfunction and epididymal spermatotoxicity. *Basic Clin Androl* [Internet]. 09 Aralık 2020;30(1):3. Available at: <https://bacandrol.biomcentral.com/articles/10.1186/s12610-020-0101-y>
136. Saad KM, Abdelrahman RS, Said E. Mechanistic perspective of protective effects of nilotinib against cisplatin-induced testicular injury in rats : Role of JNK / caspase-3 signaling inhibition. *Environ Toxicol Pharmacol* [Internet]. 2020;76(January):103334. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.etap.2020.103334>
137. Namekawa T, Imamoto T, Kato M, Sazuka T, Fuse M, Sakamoto S, et al. Testicular function among testicular cancer survivors treated with cisplatin-based chemotherapy. *Reprod Med Biol*. 2016;15(3):175–81.

138. Wang P, Sudirman S, Hsieh M, Hu J, Kong Z. Biomedicine & Pharmacotherapy Oral supplementation of fucoxanthin-rich brown algae extract ameliorates cisplatin-induced testicular damage in hamsters. *Biomed Pharmacother* [Internet]. 2020;125(January):109992. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.109992>
139. Deligönül E. Sıçan Testis Dokusunda Sisplatin İle Oluşturulan Hasar Üzerine Propolisin Etkilerinin Araştırılması. 2016.
140. Farombi EO, Ugwuezunmba MC, Ezenwadu TT, Oyeyemi MO, Ekor M. Tetracycline-induced reproductive toxicity in male rats: Effects of vitamin C and N-acetylcysteine. *Exp Toxicol Pathol*. 2008;60(1):77–85.
141. Smart E, Lopes F, Rice S, Nagy B, Anderson RA, Mitchell RT, et al. Chemotherapy drugs cyclophosphamide, cisplatin and doxorubicin induce germ cell loss in an in vitro model of the prepubertal testis. *Sci Rep* [Internet]. 2018;8(1):1–15. Available at: <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-018-19761-9>
142. Yilmaz A, Horsanali MO, Dil E, Mercantepe F, Tumkaya L, Mercantepe T, et al. Evaluation of the protective effects of amifostine and melatonin against cisplatin induced testis injury via oxidative stress and apoptosis in rats. *Exp Mol Pathol* [Internet]. 2019;104324. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.yexmp.2019.104324>
143. Soni KK, Zhang LT, You JH, Lee SW, Kim CY, Cui WS, et al. The effects of MOTILIPERM on cisplatin induced testicular toxicity in Sprague – Dawley rats. *Cancer Cell Int*. 2015;1–11.
144. Aydoğdu İ, Ekin RG, Yıldız P, Mirapoğlu SL, Çay A, Aydoğdu YE, et al. Does Ozone Administration Have a Protective Effect Against Cisplatin- induced Histological Changes in Rat Testis ? Cisplatine Bağlı Rat Testisinde Meydana Gelen Histolojik Değişikliklere Karşı Ozon. 2019;6(1):32–7.
145. Yildirim C, Yuksel OH, Urkmez A, Sahin A, Somay A, Verit A. Protective effects of Tadalafil and darbepoetin against ischemia - reperfusion injury in a rat testicular torsion model. 2018;44(5):1005–13.
146. Ozmerdiven G, Coskun B, Kaygisiz O, Vuruskan BA, Asiltas B, Kilicarslan H. The protective effect of L-arginine , tadalafil , and their combination in rat testes after ischemia and reperfusion injury. 2017;11(February):19–25.
147. Kaya K, Ciftci O, Aydın M, Cetin A, Basak N. Favourable effect of β -glucan treatment against cisplatin-induced reproductive system damage in male rats. *Andrologia*. 2019;51(9):1–7.
148. Köroğlu KM, Çevik Ö, Şener G, Ercan F. Apocynin alleviates cisplatin-induced testicular cytotoxicity by regulating oxidative stress and apoptosis in rats. *Andrologia*. 2019;51(4):1–11.
149. Yucel C, Arslan FD, Ekmekci S, Ulker V, Kisa E, Yucel EE, et al. Protective effect of all-trans retinoic acid in cisplatin-induced testicular damage in rats. *World J Men's Heal*. 2019;37(2):249–56.

150. Guzeloglu M, Yalcinkaya F, Atmaca S, Bagriyanik A, Oktar S, Yuksel O, et al. The beneficial effects of tadalafil on renal ischemia-reperfusion injury in rats. *Urol Int*. 2011;86(2):197–203.
151. Anand H, Misro MM, Sharma SB, Prakash S. Protective effects of *Eugenia jambolana* extract versus N-acetyl cysteine against cisplatin-induced damage in rat testis. 2014;1–15.
152. Aydinler A, Aytekin Y, Topuz E. Effects of Cisplatin on Testicular Tissue and the Leydig Cell-Pituitary Axis. *Oncology* [Internet]. 1997;54(1):74–8. Available at: <https://www.karger.com/Article/FullText/227665>
153. Faris Shaker Kata. Effect of Cisplatin drug on sperm characterizes, spermatogenesis and sex hormones levels of male mice *Mus musculus* L. *J Basrah Res*. 2013;39(2):112–24.
154. Fung C, Vaughn DJ. Complications associated with chemotherapy in testicular cancer management. *Nat Rev Urol* [Internet]. 2011;8(4):213–22. Available at: <http://dx.doi.org/10.1038/nrurol.2011.26>
155. Efstathiou E, Logothetis CJ. Review of late complications of treatment and late relapse in testicular cancer. *JNCCN J Natl Compr Cancer Netw*. 2006;4(10):1059–70.
156. Tan P, Liu L, Wei S, Tang Z, Yang L, Wei Q. The Effect of Oral Phosphodiesterase-5 Inhibitors on Sperm Parameters: A Meta-analysis and Systematic Review. *Urology* [Internet]. 2017;105:54–61. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.urology.2017.02.032>
157. Scipioni A, Stefanini S, Santone R, Giorgi M. Immunohistochemical localisation of PDE5 in Leydig and myoid cells of prepuberal and adult rat testis. *Histochem Cell Biol*. 2005;124(5):401–7.
158. Shimizu S, Tsounapi P, Dimitriadis F, Higashi Y, Shimizu T, Saito M. Testicular torsion – detorsion and potential therapeutic treatments : A possible role for ischemic postconditioning. 2016;
159. Cirrik S, Ayyildiz SN, Benli E, Ayyildiz A, Noyan T, Germiyanoglu RC, et al. Oxidative Stress Induced by Ureteral Obstruction and Tadalafil. *J Acad Res Med*. 2017;7(1):11–5.
160. Dearakhshandeh N, Mogheiseh A, Nazifi S, Ahrari Khafi MS, Abbaszadeh Hasiri M, Golchin-Rad K. Changes in the oxidative stress factors and inflammatory proteins following the treatment of BPH-induced dogs with an anti-proliferative agent called tadalafil. *J Vet Pharmacol Ther*. 2019;42(6):665–72.
161. Nna VU, Osim EE. Testicular toxicity following separate and combined administration of PDE5 inhibitors and opioid: assessment of recovery following their withdrawal. *Andrologia*. 2017;49(6):1–10.
162. Zaghlol DAM, Ouies SM, El-Rab WMG, El-Mahdy SM. The Toxic Effect of Sildenafil Citrate on Adult Albino Rat Testis and the Possible Protective Role of Royal Jelly (Histological and Immunohistochemical Study). *Egypt J Histol*. 2019;42(2):381–92.

163. Eid AA, Badr El Dine FMM, Nabil IM. Histopathologic and Ultrastructural Changes in Seminiferous Tubules of Adult Male Albino Rats Following Daily Administration of Different Doses of Tadalafil. *Urology* [Internet]. 2016;90:89–96. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.urology.2015.12.038>
164. Speranza L, Franceschelli S, Pesce M, Vinciguerra I, De Lutiis MA, Grilli A, et al. Phosphodiesterase type-5 inhibitor and oxidative stress. *Int J Immunopathol Pharmacol*. 2008;21(4):879–89.
165. E-Abdalla E-E, Gebaly ZM, AMoustafa A-E, Amr IM. Evaluation the Effect of Sildenafil Citrate (Sc or Viagra) on Senile Albino Rat Testis (Histological and Biochemical Study). *Egypt J Hosp Med*. 2012;49:911–32.
166. G. Al-Fartosi K. Effect of Long-Term Administration of Sildenafil Citrate (Viagra) on Some Sperm Characteristics and Testis Architecture of Male Rats. *Basrah J Vet Res*. 2009;8(2):91–103.
167. Wang F, Liu S, Shen Y, Zhuang R, Xi J. Protective effects of N - acetylcysteine on cisplatin - induced oxidative stress and DNA damage in HepG2 cells. 2019;1939–45.
168. Payabvash S, Salmasi AH, Saman K, Tavangar SM, Nourbakhsh B, Faghihi SH, et al. Salutary Effects of N-Acetylcysteine on Apoptotic Damage in a Rat Model of Testicular Torsion. *Urol Int*. 2007;248–54.
169. Çay A, Alver A, Küçük M, Is O, Eminag MS. The Effects of N-Acetylcysteine on Antioxidant Enzyme Activities in Experimental Testicular Torsion. 2006;203:199–203.
170. Taner YT, Melike T. N -acetylcysteine counteracts oxidative stress and protects alveolar epithelial cells from lung contusion-induced apoptosis in rats with blunt chest trauma. *J Mol Histol*. 2014;463–71.

ÖZGEÇMİŞ

I- Bireysel Bilgiler

Adı-Soyadı:	Alihan Kokurcan
Doğum yeri ve tarihi:	Altındağ/ 24.07.1990
Uyruğu	TC
Medeni durumu	Evli
İletişim adresi ve telefonu	Şehit Cevdet Özdemir Mah. Şeftali Cad. No:74/13 Dikmen/Ankara 05309231297
Yabancı dili	İngilizce

II- Eğitimi

Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Ankara Atatürk Anadolu Lisesi, TED
Ankara Koleji,
Ahmet Vefik Paşa İlkokulu

III- Ünvanları

Asistan Doktor

IV- Mesleki Deneyimi

-

V- Üye Olduğu Bilimsel Kuruluşlar

-

VI- Bilimsel İlgi Alanları

Yayınları:

1- Sandikci, F., Cimen, S., Cimen, S. G., Imamoglu, G. I., Han, U., Kokurcan, A., Baylan, B., Goktug, G., & Imamoglu, A. (2018). Bilateral intra-abdominal testicular tumor: Case report. *International journal of surgery case reports*, 49, 102–105. <https://doi.org/10.1016/j.ijscr.2018.06.027>

2- Kartal I, Çimen S, Kokurcan A, Akay EO, Yiğitbaşı O, Yalçınkaya F. Comparison between dorsal onlay and one-sided dorsolateral onlay buccal mucosal graft urethroplasty in long anterior urethral strictures. Int J Urol. 2020 Jun 12. doi: 10.1111/iju.14286. Epub ahead of print. PMID: 32533574.

VII- Bilimsel Etkinlikleri

Aldığı burslar

Ödüller

Projeleri

Verdiği konferans ya da seminerler

Katıldığı paneller (panelist olarak)

VIII- Diğer Bilgiler

Eğitim programı haricinde aldığı kurslar ve katıldığı eğitim seminerleri

Organizasyonunda katkıda bulunduğu bilimsel toplantılar

Diğer üyelikleri

EKLER

EK-1 TEZ KONUSU ONAY FORMU

TEZ KONUSU ONAY FORMU

Uzmanlık Öğrencisinin Adı Soyadı:	Alihan KOKURCAN
Telefon:	0530 923 1297
E-Posta:	alihankokurcan@gmail.com
Uzmanlık Dalı:	Üroloji Kliniği
Eğitim Kurumu:	SBÜ Dışkapı Yıldırım Beyazıt Uygulama ve Araştırma Hastanesi
Uzmanlık Eğitimine Başlama Tarihi:	09/07/2015
Uzmanlık Eğitimini Bitirme Tarihi:	09/07/2020
Tez Danışmanının Adı Soyadı:	Doç.Dr.Ufuk ÖZTÜRK
Telefon:	0532 254 0976
E-Posta:	ufukozturk71@gmail.com

1-Tez Başlığı/Konusu:

Ratlarda Cisplatin Kemoterapisinin Testis Dokusu Üzerine Toksisitesini Önlemede Tadalafil Ve N-Asetil Sistein Moleküllerinin Koruyucu Etkilerinin Araştırılması

2-Araştırma sorusu:

N-Asetilsistein ve Tadalafil molekülleri Cisplatin kemoterapisinin testis üzerindeki etkilerine koruyucu etkileri var mıdır?

3-Araştırmanın amacı:

Platin grubu kemoterapötik ailesi içerisinde yer alan bir ajan olan Cisplatin çeşitli dokularda olduğu gibi testis dokusunda da hasar oluşturmaktadır. Doğal bir aminoasit olan L-sistein'in N-asetillenmiş türevi olan mukolitik ajan olarak kullanılan N-Asetil sistein ise antioksidan özellikleri nedeniyle ile Cisplatin etkileri dahil çeşitli patolojilere karşı dokularda koruyucu özellikler gösterebilmektedir. 5-Fosfodiesteraz İnhibitörleri(5-PDI) esasen Erektile Disfonksiyon tedavisinde kullanılan moleküller olup tıpta bu amaç dışında kullanımı görmek mümkündür. Özellikle antioksidan özellikleri nedeniyle dokularda bazı olumlu değişikliklere yol açabilmektedirler. 5-PDI ailesine ait bir molekül olan sildenafilin ise testis dokusu üzerine koruyucu etkileri daha önce gösterilmişti. Bu çalışmamızda Cisplatin ile oluşturulan testis hasarını önlemede hem N-Asetil sistein hem de sildenafili göre daha uzun etkili olan tadalafilin koruyucu etkileri olup olmadığını, hem tek tek hemde kombine kullanılarak araştırılacaktır.

4-Araştırma materyalleri, popülasyonu:

Toplamda 40 adet rat, 5 gruba ayrılacak. Gruplar kontrol(n=8), cisplatin tedavisi verilenler(n=8), cisplatin+tadalafil tedavisi verilenler(n=8), cisplatin+n-asetilsistein tedavisi verilenler(n=8), cisplatin+tadalafil+n-asetilsistein tedavisi verilenler(n=8) şeklinde ayrılacaktır. 14 günlük tedavi sonrasında ratlara orşiektomi yapılacak ve testiküler apoptozis ve malondialdehit seviyesi incelenecektir.

5-Dahil etme ve hariç tutma kriterleri: Wistar albino, 250-300 gr, 10-12 haftalık erkek ratlar çalışmaya dahil edilecektir. Çalışma sırasında genel durumu kötüleşen ve/veya mortalite gelişen ratlar çalışmadan hariç tutulacaktır.
6-Araştırmanın birincil sonuç değişkenleri: Araştırma sonucunda elde edilecek histopatolojik ve immunfloresan değerlendirilme, serum testosteron seviyesi, testiküler dokudan malonildialdehit ölçümü yapılacak ve sonuçlar değerlendirilecektir. Dolayısı ile testis dokusu hem histolojik hem biyokimyasal belirteçler yönünden değerlendirilecektir.
7-Araştırmanın türü ve tasarımı: Deneysel, hayvan çalışması
8- Araştırma hipotezi: Cisplatin tedavisi alan hastalarda tadalafil profilaksisi kemoterapötik ajanın testiküler hasarını azaltmada plaseboya göre daha etkili bir yöntemdir.
9-Örneklem sayısı ve belirleme yöntemi: Popülasyon büyüklüğü Power and Sample Size programı ile hesaplandı.
10-Araştırmada kullanılacak istatistik yöntemler: İstatistiksel analiz SPSS programı kullanılarak yapılacaktır. ANOVA, Kruskal Wallis yöntemleri kullanılacaktır. $p<0,05$ değeri istatistiksel açıdan anlamlı kabul edilecektir.
11-Araştırmanın orijinalliği ve bilime katkısının açıklaması: Araştırma konusu orjinaldir ve bilime katkısı olacaktır.
12-Açıklamak istediğiniz diğer konular: Cisplatin tedavisi günümüzde mesane, akciğer, serviks, testiküler, beyin, baş ve boyun, lenfoma tümörlerinde kullanılan ajanlardan biridir. Özellikle Üroloji’de yaygın görülen malignitelerden biri olan testis tümörlerinde ilk basamak tedavi orşiektomidir. Operasyon geçiren hastalarda kalan diğer testis hem hormonal denge hem de fertilitate açısından önem taşımaktadır. Orşiektomi sonrası uygulanacak kemoterapi ve diğer tedaviler kalan tek testisi olumsuz yönde etkilemektedir. Veya diğer malignitelerde de sistemik tedavi alan hastalarda da testislerin etkilenme riski bulunmaktadır. Bu durum özellikle fertilitenin önemli olduğu genç erkek olgularda daha da dikkat edilmesi gereken bir husustur. Bu çalışma ile Cisplatin tedavisi sonrası testiste oluşabilecek hasarlar, N-asetil sistein ve bir 5 fosfodiesteraz inhibitörü olan tadalafilin bu hasarlardan koruyucu etkileri araştırılacaktır. Çalışmamız sonucunda bu moleküllerin olumlu ve koruyucu etkileri saptanması durumunda Cisplatin tedavisi alan fertilitayı korumak istediğimiz genç erkek olgularda ilaveten bu moleküllerin kullanımı önerilebilecektir.

Tez danışmanı
Kontrol edilmiştir ve uygundur.
İmza

**Form bilgisayar ortamında doldurulmalıdır.*

**Tez konusu onay formu tez danışmanı ve istatistik uzmanından danışmanlık alınarak uzmanlık öğrencisi tarafından doldurulduktan sonra eğitim kurumun yönetiminden uygunluk alınır. Daha sonra form anabilim dalı tez konusu değerlendirme editörüne gönderilir. Editör formu tez konusu değerlendirme hakemlerine gönderir. Hakemlerin ve editör düzeltme isteği durumunda uzmanlık öğrencisi ve tez danışmanına iade, olumlu görüşü durumunda onay için anabilim dalı başkanlığına gönderir. Anabilim dalı akademik kurulu görüşünü gerekçeleriyle beraber oluşturur ve Dekanlığa gönderir. Dekanlık sonucu uzmanlık öğrencisi ve tez danışmanına bildirir. (Kuruluş aşamasında form EBYS ile Dekanlığa gönderilmelidir.)*

3. madde: Araştırmanın amacı ya da amaçları yazıldıktan sonra, amacın tanımlama, karşılaştırma, ilişkilendirme, uyum belirlemek gibi nitelermelerini belirtir.

4. madde: Araştırma materyalleri ve popülasyon tarif edilmelidir. Hastalığın tanımı, hastaların ve kontrollerin özellikleri, deney hayvanları kullanılacaksa nitelikleri tanımlanmalıdır. Bu maddede ayrıca araştırma materyallerinin nereden sağlanacağı (gönüllü hastalar veya sağlıklı insanlar, arşiv verileri, deney ortamı vb) yazılmalıdır.

6. madde: Sağ kalım, komplikasyon, laboratuvar bulgusu, hastanın geri bildirimleri veya bulguları gibi değişkenler yazılmalıdır.

7. madde: Araştırmanın türü belirtilip tasarımı yazılmalıdır. Örneğin deneysel hayvan çalışması, ilaç çalışması, deneysel ilaç dışı çalışma, randomizasyon olup olmadığı ve niteliği, kontrolü olup olmadığı, retrospektif veya prospektifliği, kesitsel, khort çalışma gibi tasarım tam olarak yazılmalıdır.

9. madde: Örneklem sayısının belirleme yöntemi ve nasıl belirlendiği yazılmalıdır.

EK-2 TEZ KONUSU HAKEM DEĞERLENDİRME FORMU

TEZ KONUSU HAKEM DEĞERLENDİRME FORMU

Öğrenci Adı Soyadı	Alihan KOKURCAN
Kurumu	SBÜ Dışkapı Yıldırım Beyazıt Uygulama ve Araştırma Hastanesi
Uzmanlık Alanı	Üroloji
	DEĞERLENDİRME
1-Tez Başlığı/Konusu:	UYGUN
2-Araştırma sorusu:	Araştırma sorusu başlıkla ve hipotezle uyumlu değil. “N-Asetil sistein kadar etkili mi” yerine örneğin, “Cisplatin kemoterapisi alan ratlarda tadalafil tedavisi ve N-asetil sistein tedavilerinin oksidatif strese bağlı testis apoptozisini önlemede etkili midir? Tadalafil tedavisinin etkinliği plasebo ve/veya N-asetil sistein tedavilerine göre üstünlüğü var mıdır?” gibi... yazılmalıdır.
3-Araştırmanın amacı:	Amaç tek başına tadalafil tedavisinin üstünlüğünü mü ortaya koymak yoksa n-asetil sistein tedavisinin de başarısını göstermek mi? Bu durum biraz daha net olarak açıklanmalıdır.
4-Araştırma materyalleri, popülasyonu:	UYGUN
5-Dahil etme ve hariç tutma kriterleri:	Kullanılacak rat cinsleri, rat ların aylıkları, gramajları ve erkek oldukları dahil edilme kriterlerinde belirtilmelidir.
6-Araştırmanın birincil sonuç değişkenleri:	UYGUN
7-Araştırmanın türü ve tasarımı:	UYGUN
8- Araştırma hipotezi:	Hipotezde plaseboya göre daha etkili bir yöntem veya N-asetil sistein tedavisi kadar etkili bir yöntemdir şeklinde eklenmelidir.
9-Örneklem sayısı ve belirleme yöntemi:	UYGUN
10-Araştırmada kullanılacak istatistik yöntemler:	Eğer çalışma sonuçlarında niteliksel veri elde edilmeyecekse istatistik yöntemi doğrudur.
11-Araştırmanın orijinalliği ve bilime katkısının açıklaması:	UYGUN
12-Açıklamak istediğiniz diğer konular:	
Hakemin kararı	
HAKEM ADI SOYADI:	Sedat ÖNER
KURUMU:	SBÜ Bursa Yüksek İhtisas SUAM
TARİH:	15.01.2018

TEZ KONUSU HAKEM DEĞERLENDİRME FORMU

Öğrenci Adı Soyadı	Alihan Kokurcan
Kurumu	SBÜ Dışkapı Yıldırım Beyazıt Uygulama ve Araştırma Hastanesi
Uzmanlık Alanı	Üroloji
	DEĞERLENDİRME
1-Tez Başlığı/Konusu:	Ratlarda Cisplatin kemoterapisinin testis üzerine toksisitesini önlemede Tadalafil ve N-Asetil Sistein etkileri
2-Araştırma sorusu:	Uygun
3-Araştırmanın amacı:	Uygun
4-Araştırma materyalleri, popülasyonu:	Uygun
5-Dahil etme ve hariç tutma kriterleri:	
6-Araştırmanın birincil sonuç değişkenleri:	Uygun
7-Araştırmanın türü ve tasarımı:	Uygun
8- Araştırma hipotezi:	Uygun
9-Örneklem sayısı ve belirleme yöntemi:	Uygun
10-Araştırmada kullanılacak istatistik yöntemler:	Uygun
11-Araştırmanın orijinalliği ve bilime katkısının açıklaması:	Araştırma konusu orjinaldir ve bilime katkısı olacaktır
12-Açıklamak istediğiniz diğer konular:	Cisplatin mesane kanseri tedavisinde de kullanılmaktadır. Ayrıca "Cisplatin tedavisi alan hastalarda fertilitiyi korumak istediğimiz genç erkek olgularda ilaveten bu moleküllerin kullanımı önerilecektir" çok iddialı olmuş. Daha varsayımsal bir cümle olması kanaatindeyim. Örnek çalışmalar 1.Niger. J. Physiol. Sci. 31 (2016):Adeneye and Benebo 2. http://www.kanserhekimi.com/wp-content/uploads/2017/07/Dokucu_et_al-2000-BJU_International.pdf 3. Özdemir, E., Dokucu, A., Uzunlar, A. et al. Int Urol Nephrol (2002) 33: 127. https://doi.org/10.1023/A:1014442027991
Hakemin kararı	
HAKEM ADI SOYADI:	Enver Özdemir, MD, PhD
KURUMU:	SBÜ GOP Taksim EAH
TARİH:	19.01.2018

EK-3 DENEY HAYVANLARI ETİK KURUL BAŞVURU ONAYI



Kobay Deney Hayvanları Laboratuvarı Sanayi ve Ticaret A.Ş.
Osman ÖZÜTÜ Teknokent
Uludağ Çarşı Caddesi, 1308. Sokak, No: 8 D: 17
Etiler/Beşiktaş / Beşiktaş / İstanbul
(2312) 394 70 94
info@kobay.com.tr
www.kobay.com.tr

KOBAY DHL A.Ş. YEREL ETİK KURULU BAŞVURU ONAYI		
BAŞVURU BİLGİLERİ	Protokol Numarası	403
	Protokol Adı	Ratlarda Cisplatin Kemoterapisinin Testis Dokusu Üzerine Toksisitesini Önlemede Tadalafil Ve N-Asetil Sistein Moleküllerinin Koruyucu Etkilerinin Araştırılması
	Başvuru Tarihi	20.9.2019
	Sorumlu Araştırmacı Adı-Ünvanı	Ashan KOKURCAN
	Sorumlu Araştırmacı Çalıştığı Kurum	Sağlık Bilimleri Üniversitesi Dışkapı Yıldırım Beyazıt Hastanesi Uluk ÖZTÜRK
	Yardımcı Araştırmacılar	M.Abdurrahim İMAMOĞLU Demet YILMAZER Fevzi Nuri AYDIN Ali YALÇINDAĞ
KARAR BİLGİLERİ	Onay Numarası	403
	Onay Tarihi	23.9.2019
	Onaylanan Hayvan Türü ve Sayısı	Wistar Albino Rat 40 Adet Erkek
	Onay Bilgileri	Proje amaç,gerekçe , yaklaşım ve yöntem yönünden incelenmiş , çalışmanın gerçekleşmesinde etik sakınca bulunmadığına karar verilmiştir.
KOBAY DHL A.Ş. YEREL ETİK KURUL ÜYELERİ	Etik Kurul Başkanı Veteriner Hekim A.Begüm BUĞDAYCI AÇIKKOL	
	Etik Kurul Başkan Yardımcısı Prof. Dr. Güneş ESENDAĞLI	
	Etik Kurul Üyesi Sorumlu Veteriner Hekim Salih SALAR	
	Etik Kurul Üyesi Kınay DERİCİ	
	Etik Kurul Üyesi Veteriner Hekim Kaan YAVUZYİĞİT	
	Etik Kurul Üyesi Turgut ALTUN	
	Etik Kurul Üyesi Adil KİŞ	
	Etik Kurul Üyesi Uzman Diğdem Yöyen ERMIŞ	
	Etik Kurul Üyesi Ali VARDOL	

EK-4 BİLİMSEL ÇALIŞMALARI DESTEKLEME ONAY FORMU



T.C. Sağlık Bakanlığı
Sağlık Bilimleri Üniversitesi
Dışkapı Yıldırım Beyazıt
Eğitim ve Araştırma Hastanesi



BİLİMSEL ÇALIŞMALARI DESTEKLEME KURULU BAŞKANLIĞI

KARAR NO: 74/02
KARAR TARİHİ: 17.10.2019

Hastanemizde Üroloji Kliniğinde Doç.Dr. Ufuk ÖZTÜRK sorumluluğunda yapılması planlanan Dr. Alihan KOKURCAN' a ait "Ratlarda Cisplatin Kemoterapisinin Testis Dokusu Üzerine Toksisitesini Önlemede Tadalafil ve N-Asetil Sistein Moleküllerinin Koruyucu Etkilerinin Araştırılması" konulu tez çalışması incelenmiş olup maddi olarak yapılması ve desteklenmesi oy birliğiyle uygun görülmüştür.

15 000

Başkan

Doç. Dr. Cem SAKA

Üye

Doç. Dr. Derya ÖZKAN

Üye

Doç. Dr. H. Hakan KERTMEN

Üye

Prof. Dr. Işık CONKBAYIR

Üye

Doç. Dr. Duray ŞEKER

Üye

Doç. Dr. Evrim ÖNDER

Üye

Op. Dr. Evrim DUMAN

EK-5 DENEY HAYVANLARI KULLANIM SERTİFİKASI

	 Hayvan Deneyleri Merkezi Etik Kurulu
KOBAY DENEY HAYVANLARI LAB. SAN. VE TİC. A.Ş. HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU	
DENEY HAYVANLARI KULLANIM SERTİFİKASI	
Sayın ALİHAN KOKURCAN	
25.02.2019 - 08.03.2019 tarihleri arasında Kobay Deney Hayvanları Lab. San. ve Tic. A.Ş. HADYEK tarafından Ankara İlinde düzenlenen "Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası" eğitimini başarı ile tamamlayarak A kategorisi sertifikası almaya hak kazanmıştır.	
 Vefefiner Hekim AYŞE BEGÜM BUÇDAYCI AÇIKKOL HADYEK Başkanı ve Sorumlu Yönetici	
	



Hayvan Deneyleri
Merkezi Etik
Kurulu

A KATEGORİSİ

Ders Adı	Ders Saati	
	Teorik	Uygulama
Mevzuat, Etik, Hayvan Davranışları ve 3R*	3	
Deney hayvanlarının anatomisi, fizyolojisi, histolojisi ve biyokimyası	5	4
Kan ve örnek alma teknikleri	1	4
Tutuş teknikleri	1	4
İlaç verme ve enjeksiyon teknikleri	1	4
Anestezi ve ötenazi teknikleri	2	4
Ağrı, ıstırap, sıkıntı ve insani sonlandırma noktalarının belirlenmesi	2	
Laboratuvar işleyişi (temizlik, güvenlik, çalışma sağlığı)*	2	4
Deney hayvanlarının beslenmesi	2	
Hayvan hastalıkları a) mikrobiyolojik, virolojik, parazitolojik, mikolojik b) klinik dışı vurumlar c) sağlık tarama programları	4	4
Biyoistatistik (mümkün olan en düşük hayvan sayısının belirlenmesi)*	2	
Standardizasyon a) Genetik standardizasyon b) Mikrobiyolojik standardizasyon c) Bakım-barındırma d) Araştırma	3	
Spesifik deney modelleri	4	4
Hayvan deneylerinin tasarlanması*	2	4
Temel Cerrahi	2	
Deney hayvanlarının yetiştirilmesi	2	4
Alternatif Yöntemler*	2	
TOPLAM	40	40

Başarı Puanı

: 96

Sertifikanın geçerli olduğu hayvan türü/türleri : Fare (Mus musculus) , Sıçan (Rattus norvegicus) , Kobay (Cavia porcellus) , Hamster (Mesocricetus) , Tavşan (Oryctolagus cuniculus)

Bu Sertifika Orman ve Su İşleri Bakanlığı'nın 30.11.2017 tarih ve 2017/7 sayılı Genelgesine uygun olarak düzenlenmiştir.