T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

STREPTOZOTOSİN İLE DİYABET OLUŞTURULMUŞ SIÇANLARDA ALFA LİPOİK ASİDİN TESTİS DOKULARINA ETKİSİNİN HİSTOLOJİK YÖNDEN İNCELENMESİ

İnci KARA

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HİSTOLOJİ EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

Danışman
Prof. Dr. Aydan CANBİLEN

KONYA – 2010

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

STREPTOZOTOSİN İLE DİYABET OLUŞTURULMUŞ SIÇANLARDA ALFA LİPOİK ASİDİN TESTİS DOKULARINA ETKİSİNİN HİSTOLOJİK YÖNDEN İNCELENMESİ

İnci KARA

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HİSTOLOJİ EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

Danışman
Prof. Dr. Aydan CANBİLEN

Bu proje Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 09202043 proje numarası ile desteklenmiştir.

KONYA – 2010

i.ÖNSÖZ

Tüm yüksek lisans eğitimim süresince desteklerini esirgemeyen Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Başkanı sayın hocam Prof. Dr. Hasan Cüce'ye, Öğretim Üyesi hocalarım Prof. Dr. S. Serpil Kalkan, Prof. Dr. Selçuk Duman ve Doç. Dr. Murad Aktan'a,

Patoloji çalışmalarından dolayı Patoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Mustafa Cihat Avunduk'a,

Çalışmalarım aşamasında yardımlarını esirgemeyen Biyofizik Anabilim Dalı Arş. Gör. Seçkin Tuncer'e ve Patoloji Anabilim Dalı Araştırma Görevlisi Dr. Esin Çelik 'e

Yüksek lisans eğitimim boyunca birlikte çalıştığım doktora ve yüksek lisans öğrencisi arkadaşlarıma teşekkür ve saygılarımı sunarım.

Çalışmalarım boyunca manevi desteğini esirgemeyen annem Nimet Kara'ya teşekkür ederim.

ii.İÇİNDEKİLER

1. GİRİŞ 1

1.1. Testis Anatomisi 1

1.2. Testislerin Embriyolojisi 3

1.3. Testis Histolojisi 7

1.3.1. Skrotum 7

1.3.2. Testiküler Kapsül 7

1.3.3. Testisin Histolojik Yapısı 8

Seminifer Tübüller 8

Seminifer Epitel 9

Sertoli Hücreleri 9

Spermatogenetik Hücreler (Germ Hücreleri) 12

Spermatogonyum (Gonosit) 12

Primer Spermatosit (spermatosit-1) 13

Sekonder Spermatosit (spermatosit-2) 13

Spermatid 13

Olgun Spermium-Spermatozoon 16

1.4. Olgun Spermin Fizyolojisi 17

1.5. İnterstisyel Doku 17

1.5.1. Leydig Hücresi 17

1.6. Testiste Dejeneratif ve Rejeneratif Olaylar 18

1.7. Testisin Boşaltıcı Duktusları 19

1.7.1. Tübüli Rekti 20

1.7.2. Rete Testis 20

1.7.3. Duktuli Efferentes 20

1.7.4. Duktus Epididimis 21

1.7.5. Duktus Deferens 22

1.7.6. Ampulla Duktus Deferens 23

1.7.7. Duktus Ejakulatoryus 23

1.8. Testisin Fonksiyonları ve Bu fonksiyonların Hormonal Denetimi 23

1.8.1. Ekzokrin Fonksiyonu (Spermium Yapımı) 23

1.8.2. Endokrin Fonksiyonu 24

1.8.2.1. Testosteronun Etkileri 25

İnhibin 25
Steroid Feedback 25
1.9. Diyabet 26
1.9.1. İnsülinin Hücre Geçirgenliği Üzerine Etkileri 28
1.9.2. İnsülinin Lipid Metabolizması Üzerine Etkileri 28
1.9.3. İnsülinin Protein Metabolizması Üzerine Etkileri 28
1.9.4. İnsulinin Karbonhidrat Metabolizması Üzerine Etkileri 28
1.9.5. İnsülin Salınımı ve Kan Glukoz Düzeyinin Ayarlanması 29
1.10. Diyabette Oksidatif Stres 32
1.10.1. Serbest Radikaller 33
1.10.2. Antioksidan Mekanizmalar 34
1.11. Deneysel Diyabet 36
1.12. Alfa Lipoik Asit 39

2.GEREÇ VE YÖNTEM 45

3.BULGULAR 48
3.1. Kontrol Grubu 48
3.2. ALA Grubu 49
3.3. Diyabet+ALA Grubu 51
3.4. Diyabet Grubu 53

4. TARTIŞMA 58

5.SONUÇ VE ÖNERİLER 62

6.ÖZET 65

7.SUMMARY 66

8.KAYNAKLAR 67

9.EKLER 73

10.ÖZGEÇMİŞ 74

iii.SİMGELER VE KISALTMALAR

ABP: Androjen bağlayıcı protein

ADA: Amerikan Diyabet Cemiyeti

ALA: Alfa Lipoik Asit

AMH: Antimüllerian hormon

Ca: Kalsiyum

DHLA: Dihidrolipoik Asit

DM: Diabetes mellitus

FSH: Folikül uyarıcı hormon

GnRH: Gonad hormonlarını salgılatan hormon

GSH: Glutatyon

hCG: Gonadotropin hormonu

H E: Hematoksilen-Eozin

ICSH:İnterstisyel hücre stimüle edici hormon

İp:İntraperitoneal

IDDM:İnsülin yokluğundan kaynaklanan diyabet

K^+: Potasyum

LH: Luteinize edici hormon

SRY:Y kromozomunun seks belirleyici geni

TDF: Testis belirleyici faktör

MIS:Müllerian inhibitör madde

Na: Sodyum

NIDDM:İnsüline dirençten kaynaklanan diyabet.

PUFA:Çoklu doymamış yağ asidi

SOR: Serbest oksijen radikalleri

STZ: Streptozotosin

1.GİRİŞ

1.1. Testis Anatomisi

Erkeklerde temel üreme organı olan testisler; sağlı sollu, çift halde testis torbası (skrotum) olarak adlandırılan deri bir kese içinde asılı durumdadırlar. Testislerin uzun eksenleri yukarıdan aşağıya doğru olup, yanlardan hafif basıktır ve ovoiddir. Beyaz görünümlü ve kendine özgü bir sertliğe sahip olan testislerin büyüklükleri kişiden kişiye değişiklik gösterir; ortalama 4-5 cm uzunluğunda, 2-3 cm genişliğinde, 2-3cm kalınlığında ve 20-30 g ağırlığındadır. Testisler, yaklaşık aynı büyüklükte olmalarına rağmen, sol testis sağ testise göre % 10 daha hafif, sağ testis soldakine göre biraz daha yukarıda yer almaktadır. Sıcaklıkları ise vücut sıcaklığından 3-4ºC daha düşüktür *(*Arıncı ve Elhan 1999 *)* Testisin spermatik arterleri kıvrıntılı olup buradaki kan spermatik venlerin pampiniform pleksusunda bulunan kana paralel fakat zıt yönde akmaktadır. Bu anatomik yapı, ısı ve testosteronun zıt akım değiş tokuşuna izin verebilir (William 1995).

Testislerin temel fonksiyonlarını yerine getirebilmeleri adına karın boşluğundan skrotuma inmeleri zorunludur ve bu inişleri esnasında karın ön duvarı tabakalarını da sürüklemektedirler.

Bundan dolayı testisler şu tabakalarla kaplıdırlar;

a) Deri Skrotum
b) Tunika dartos
c) Fasia spermatika eksterna
d) Fasia kremasterika
e) Fasia spermatika interna
f) Tunika vaginalis testis

Testisin, fasia medialis (iç yan yüz) ve fasia lateralis (dış yan yüz) olmak üzere iki yüzü, ekstremites superior (üst uç) ve ekstremites inferior (alt uç) olmak üzere iki ucu, margo anterior (ön kenar) ve margo posterior (arka kenar) olmak üzere de iki kenarı bulunur (Arıncı ve Elhan 1999, Karataş 1998, Odar 1986, Şeftalioğlu 1998*)* İç yan yüzüne bakıldığında konveks şekilde olup, arkada üst kenara yakın bir bölümünden başka, büyük bir parçası tunika vaginalisin visseral laminası ile örtülüdür. Dış yan yüze bakıldığında ise konveks ve tunika vaginalis ile örtülü olup

testisin üst kenarında olan epididimis ile komşu halde bulunmaktadır. Biraz konveks şekilli olan arka kenar boydan boya epididimis ile komşudur. Ön kenar serbest halde bulunur ve tunika vaginalis testisin parietal laminası ile komşu haldedir (Arıncı ve Elhan 1999, Karataş 1998, Odar 1986, Şeftalioğlu 1998).

Üst uç epididimis başı ile örtülüdür, bu kısmı saran Lamina visseralis (epiorchium), doğrudan doğruya epididimis üzerine geçer ve burada bir oluk meydana getirir. Bu şekilde oluşan kaput epididimisin hemen altında küçük oval bir cisimcik bulunmaktadır. Appendiks testis adı verilen bu çıkıntı müller kanalının üst ucunun bir kalıntısı şeklindedir. Kaput epididimisin üstündede genellikle appendiks epididimisis adı verilen bir çıkıntı bulunur. Bu, ayrılmış bir duktuli efferentestir ve alt uçta, ligamentum skrotale denilen elastik, düz kas liflerinden meydana gelmiş bir skrotal bağ ile skrotuma tutunmuştur (Arıncı ve Elhan 1999, Karataş 1998, Odar 1986, Şeftalioğlu 1998).

Epididimis, testisin posterolateral yüzeyinde bulunan, yaklaşık 5-6 metre uzunluğunda ve tek tübüli kontortiden oluşan bir dokudur. Vas deferens, epididimal içeriği üretraya taşır ve 30-35 cm uzunluğunda, müsküler bir kanaldır. Testiküler arterler, aortadan çıkar ve iç inguinal halkaya ulaşabilmek için retroperitoneal bölgede bulunur. Testise girdiğinde internal arter, inferior testiküler arter ve epididimisin baş kısmına giden kapiller arter olmak üzere dallara ayrılır. Testiküler venler ise testiküler arterin çevresinde pampiniform pleksusu oluşturmaktadırlar (Campbell 2005).

Testis ve epididimis innervasyonu iki yolla olmaktadır. Bazı bir kısım sinirler renal ve aortik pleksuslardan çıkmakta ve gonadal damarlarla birlikte bulunmakta, diğer gonadal afferent ve efferent sinirler ise vaz deferens ile birlikte pelvik pleksustan çıkmaktadırlar. Genitofemoral sinirin genital dallarıda, paryetal ve visseral tunika vajinalis ve skrotum duyarlılığını sağlamaktadırlar (Campbell 2005).

Testisler, arterlerini aorta abdominalisten alırlar. Arteria testikularis, testise varıncaya kadar karın boşluğunun büyük bir kısmını ve inguinal kanalı geçmek zorundadır. Testisin arka kenarından bezin içine sokulmakta ve mediastinum testiste bir çok dallar vermektedirler. Bu dallar septula testisleri izleyerek bezin her tarafına dağılır ve zengin kapiller ağı yaparak testis kanalcıklarını sararlar. Venler duktus

deferensin etrafında pleksus pampiniformis olarak adlandırılan bir ven ağı oluştururlar. Bu ağdan önce iki, sonra birer tane vena testikülaris meydana gelir. Vena testikularis dekstra, vena kava inferior'e, vena testikularis sinistra, vena renalis'e dökülür. Sinirler, sempatik ve parasempatik lifler pleksus çöliakustan arteria testikularis çevresinde bulunan pleksus testikülaris ile gelirler. Bu sinirler bezlerin çalışmasını kontrol etmektedirler.

Testislerin lenf damarlarına bakıldığında ise funikulus spermatikus'u izledikleri ve nodus lenfatikus ile birleştikleri görülür (Arıncı ve Elhan 1999, Karataş 1998, Odar 1986, Şeftalioğlu 1998).

1.2. Testislerin Embriyolojisi

İlkel cinsiyet hücreleri büyük, yuvarlak şekilli ilkel üreme hücreleri olup, en erken olarak 4. haftanın başında allantoisin çıkış noktasının yakınında bulunan vitellüs kesesinin endoderm hücreleri arasında görülür. Embriyonun katlanması sırasında vitellüs kesesinin dorsal kısmı embriyo içinde kalır. Bu olurken ilkel cinsiyet hücreleri arka bağırsağın dorsal mezenteri boyunca gonadal kabartılara göç ederler. 6. haftada ilkel cinsiyet hücreleri alttaki mezenkime girer ve primer cinsiyet kordonlarına ulaşır. Burada germ kordonlarını yaparlar ve böylece artık farklılaşmamış evre sona erer. (Carlson 1996, Hassa 2003, Moore 2002, Sadler 2000, Şeftalioğlu 1998).

Gonadlar, üç kaynaktan köken almaktadır

*Karın arka duvarını döşeyen mezotel (epitel)

*Altta bulunan mezenkim (bağ dokusu)

*Primordial germ hücreleri (ilkel cinsiyet hücreleri)

Gonadal gelişimin ilk belirtileri mezonefrozun medial bölgesi üzerindeki sölomik epitelyumun çoğalması ve alt kısımdaki mezenkimin yoğunlaşması ile meydana gelir (Carlson 1996, Hassa 2003, Moore 2002, Sadler 2000, Şeftalioğlu 1998).

İnsanda vitellus kesesi duvarında bulunan endodermal primordial germ hücrelerinin 3. haftada allantois'i aşarak bağırsağın arka kısmındaki mezenter kökü (Radix mesenterii)'nün sağında ve solunda mezonefrozun medialinde mezoteldeki

gonadal kabartı (Plica genitalis) içine girmesi ve burada bulunan hücreleri indüklemesi (5. hafta başı) ile gonad taslakları gelişmeye başlar (Moore 2002). 5. haftada ortaya çıkan bu çoğalma ürünü, genital kabartı olarak bilinir. Parmağa benzer şekilde alt mezenkime doğru inen epiteloid kordonlar henüz yeni gelişen primer seks kordonlarını andırır haldedirler. Farklılaşmamış gonad yapısında dışta korteks, iç kısımda ise medulla bulunur. Eğer embriyo XX seks kromozom kompleksine sahipse, farklılaşmamış gonadın korteksi overe differensiye olur. Medullası geriler. Embriyo XY seks kromozom kompleksini içeriyorsa medulla testise farklılaşır, korteks bir takım kalıntıları dışında geriler ve dejenere olur (Carlson 1996, Gürsoy ve Koptagel 1997, Hassa 2003, Kayalı ve ark 2002, Moore 2002, Sadler 2000, Şeftalioğlu1998).

7. haftadan itibaren embriyonun erkeklik ya da dişilik yönünde gelişmeye başlaması gerçekleşir. Erkekte ya da dişide plika içinde bulunan mezodermal hücreler primordial hücrelerin etrafını sarar. Mezodermal hücrelerden destek hücreleri (erkekte Sertoli hücreleri, dişide ise folikül hücreleri) gelişir. Seks kromozom kompleksinde Y kromozomu taşıyan embriyolarda testisler gelişir. Endodermal primordial hücrelerdende germinal hücreler (gonositler = erkekte spermatogoniumlar, dişide oogoniumlar) gelişir (Moore 2002). Y kromozomunun seks belirleyici geninin (SRY) etkisi ile primitif seks kordonlarının medüller bölgesinde bulunan hücreler Sertoli hücrelerine farklılaşmaya başlarken kortikal bölgedeki hücrelerde dejenere olurlar (Sarıkaya 2006). Testis belirleyici faktör (TDF), primer seks kordonlarını uyararak, onların farklılaşmamış gonadın medullanın derinlerine doğru uzamasına sebep olur, kordonlar burada dallanarak birbirileriyle anastomoz yaparlar ve böylece ağsı görünümdeki Rete testis oluşur. Seks kordonlarının (seminifer kordonların) kalın bir fibröz kapsülü olan tunika albuginea geliştikten sonra, yüzey epiteli ile olan bağlantıları kaybolur. 12. haftada yoğun Tunika albugineanın gelişimi, fetusta testiküler gelişim için oldukça karakteristik özelliktir. Genişlemiş olan testis aşamalı halde dejenere olmuş mezonefrozdan ayrılır ve kendi mezenteri olan mesorchium ile asılı hale geçer. Seminifer kordonlar, Seminifer tübüllere, Tübüli rekti ve Rete testise farklılaşırlar (Gürsoy ve Koptagel 1997, Hassa 2003, Kayalı ve ark 1992, Moore 2002, Sadler 2000, Şeftalioğlu 1998) .

Seminifer tübüller arasında bulunan mezenşimden Leydig hücreleri gelişir ve bu hücreler 8. haftadan itibaren testosteron yapmaya başlarlar. Ergenlikten önce seminifer tübüller içinde sadece Sertoli hücreleri ve spermatogonyumlar vardır ve tübülde henüz lümen oluşmamıştır; mitoz bölünme görülür, fakat mayoz bölünme görülmez (Moore 2002). Ergenliğin ardından bu hücrelere primer spermatosit, sekonder spermatosit, spermatid ve spermatozoon da eklenir (Moore 2002, Itoh ve ark 2005). Kalıntı haldeki mezonefrik tübüllerden efferent kanallar oluşur ve epididimisi oluşturan mezonefrik kanala bağlanırlar (Moore 2002). İnsan koryonik gonadotropin (hCG) hormonu testosteron üretimini stimüle eder, hormonun miktarı 8-12 haftalık periyotta en yüksek değerine ulaşır. Fetal testisler testosterona ilaveten glikoprotein bir hormon olan antimüllerian hormon (AMH) veya müllerian inhibitör madde (MIS) adı verilen bir hormonu da salgılamaktadır. Sertoli hücreleri tarafından salgılanan AMH'nin salınması puberteye kadar devam eder, daha sonra seviyesi azalır. AMH, paramezonefrik (müllerian) duktusların gelişimini baskılar (Gürsoy ve Koptagel 1997, Hassa 2003, Kayalı ve ark 1992, Moore 2002, Sadler 2000, Şeftalioğlu 1998). Puberteye kadar lümenleri olmayan seminifer tübüllerin, puberteden itibaren lümeni gelişmeye başlar ve Seminifer tübülleri oluşturur.

Seminifer tübül duvarında 2 tip hücre yer alır (Gürsoy ve Koptagel 1997, Hassa 2003, Kayalı ve ark 1992, Moore 2002, Sadler 2000, Şeftalioğlu 1998). Bunlar testisin yüzey epitelinden gelişen ve destek hücreleri olan Sertoli hücreleri ve primordial germ hücrelerinden farklılaşan primordial sperm hücreleri olan Spermatogonia'dır. Sertoli hücreleri, fetal testiste seminifer tübüllerde çoğunluk kısmı oluşturur (Gürsoy ve Koptagel 1997, Hassa 2003, Kayalı ve ark 1992, Moore 2002, Sadler 2000, Şeftalioğlu 1998). Daha sonraki gelişme sırasında, testisin yüzey epiteli düzleşir ve yetişkin testisin dış yüzeyinde bulunan mezoteli oluşturur. Efferent duktulileri (duktuli efferentes) oluşturan Rete testis, 15-20 adet mezonefrik tübüller ile devam eder ve Duktus epididimisi oluşturan mezonefrik duktus ile bağlanır. 28. haftada testisler arka karın duvarından ayrılır, inguinal halkanın derinliğine doğru yer değiştirirler, yani doğumdan önce genellikle skrotuma inmiş olurlar.

Erkek ve dişi embriyoların ikisinde de Mezonefrik kanallar (Wolff) ve Paramezonefrik kanallar (Müller) olmak üzere iki çift üreme kanalı vardır. Wolff,

erkek üreme sisteminin gelişmesinde önemli rol üstlenirken, Müller dişi üreme sisteminin gelişmesinde rol oynarlar.

5 ve 6. haftada üreme sistemi farklılaşmamış dönemde iken üreme kanal çiftleri vardır. Mezonefrik kanallar mezonefrik böbreklerden idrarı boşaltır, dolayısıyla erkek üreme sisteminin gelişmesinde önemli rol alırlar (Gürsoy ve Koptagel 1997, Hassa 2003, Kayalı ve ark1992, Moore 2002, Sadler 2000, Şeftalioğlu 1998). Testosteronun 8. haftada fetal testiste yaptığı etkisiyle mezonefrik kanalın proksimal kısmı kıvrılıp epididimisi yapar. Kanalın geri kalan kısmı duktus deferensi ve ejakülatuar kanalı yapar. Sertoli hücreleri fetal testiste erkekleştirici hormonları (testosteron gibi) ve MIS'ı yapar (Gürsoy ve Koptagel 1997, Hassa 2003) 6-7. haftalarda MIS yapımı başlar. İnterstisyel hücreler ise testosteron yapımına 8. haftada başlar. Leydig hücreleri olarak adlandırılan bu hücreler germ kordonları arasında kalan mezenkimden farklılaşır ve sayıları 4-6. aylarda en yüksek düzeye ulaşır. Testosteron yapımı hCG ile uyarılır, testiste mezonefrik kanalları erkek üreme kanallarını oluşturması için uyarır. MIS ise epitelyal mezenkimal dönüşümle paramezonefrik kanalların yok olmasına neden olur. Her mezonefrik kanalın kaudal ucundan yanlardan dışarı doğru büyüyen yapılar seminal vezikülleri oluşturur ve bunlar spermleri besleyen bir salgı yapar. Ejakülatuar kanalı ise mezonefrik kanalın vesiküla seminalisin kanalları ile üretra arasında kalan kısmı meydana getirir (Hassa 2003, Gürsoy ve Koptagel 1997, Kayalı ve ark 1992, Moore 2002, Sadler 2000, Şeftalioğlu 1998).

Başlangıçta; oluşmaya başlayan, böbreklerin yakınında yerleşik durumdaki testisler 23. haftaya kadar bulundukları yerde sessizce kalırlar, bu sırada skrotum içinde prosessus vajinalis uzar (Backhouse 1982). Testisin transinguinal geçişi birkaç gün içinde tamamlanır (Sampaio ve Favorito 1998). Testislerin %75'i inguinal kanalı 24-28. gebelik haftasında geçer (Heyns CF 1987). Testisin böbrek bölgesinden inguinal kanala doğru yer değiştirmesinde fetal Leydig hücreleri tarafından salgılanan insülin benzeri faktör-3 rol oynar (Hutson ve ark 1997). Testisin inişinde etkili faktörlerden androjenler de dikkati çekmektedir. Androjenlerin, gubernakulumun oluşmasında etkileri yoktur ancak testisin kasık bölgesinden skrotuma inişinde etkisinin olduğu düsünülmektedir. MIS'in ise gubernakulum oluşumuna etkisi oldukça azdır (Kubota ve ark 2002).

Fetal Gelişim Sürecinde Testosteronun Fonksiyonları: Testosteron, erkek fetus testislerinde, embriyonik hayatın yaklaşık 7. haftasında yükselmeye başlar (Guyton 2005).

Testosteronun Testislerin İnmesindeki Etkisi: Testisler genellikle gebeliğin son 2-3 ayında yeterli düzeyde testosteron salgılanmasıyla skrotuma inerler. (Guyton 2005).

1.3. Testis Histolojisi

Testisler ekzokrin ve endokrin fonksiyonlu birleşik tübüler bezlerdir (Kalaycı 1986)**.** Ekzokrin salgısı, spermium ve testis sıvısı, endokrin salgısı ise steroid yapılı olan testosteron hormonudur dolayısıyla testisler üreme ve hormon salgılama gibi iki önemli işleve sahiptirler (Kaloğlu ve Gürsoy 1997, Kayalı ve ark 1992).

1.3.1. Skrotum

Derisi; çok ince olan, melanin pigmenti içerdiğinden kahverengi renkte olan, ince kıllar, yağ bezleri (salgısı özel kokuda) ve çok bol ter bezleri bulunan, sinir sonlanmalarından zengin (kılın mekanik uyarılması ve ısı değişimlerine duyarlı) bir yapıdır. Deri altında yağ dokusu yoktur (ısı kaybı için uygun bir yapı), deri ile altında yer alan ince düz kas tabakası (dartos kası) arasında ince bir bağ dokusu vardır.

Skrotum, testis ısısının ayarlanmasında önemli rol oynar. Yapısal özellikleri (deri altında yağ dokusu olmayışı, damardan ve ter bezinden zengin oluşu) bu işlevine uygundur (Kalaycı 1986)**.**

1.3.2. Testiküler Kapsül

Skrotum ile testis dokusu arasında 3 tabakalı testiküler kapsül yerleşiktir:

1- Tunika Vaginalis: Karın bölgesinin arka duvarından gelişir, daha sonra skrotuma inişi sırasında peritonu skrotum içine sürükler. 2 yapraklı (parietal ve visseral yapraklar) periton uzantısıdır. Hilus dışında testisin ön ve yan duvarlarını tamamen örter. Visseral yaprak tunika albugineaya yapışır, parietal yaprak ise skrotumun iç yüzüne dayanır. Tunika vaginalis epiteli, peritona benzer yapıdadır. Bağ dokusu üzerine oturmuş bir sıra yassı mezotel hücresi bulunur.

2- Tunika Albuginea: En belirgin tabakadır. Tunika vaginalis'in visseral yaprağını içten örter. Kalın fibro elastik bağ dokusu arasında çok az sayıda düz kas fibrilleri bulunur.

3- Tunika Vasküloza: Tunika albugine'nın iç yüzünde yer alan ve damardan zengin olan bağ dokusudur.

Tunika albuginea'nın testis içine doğru olan uzantılarının (septum) iç yüzünü de örter, dolayısıyla Tunika vasküloza bütün lobülleri dıştan sarar. Gelişimi sırasında prosessus vaginalis önünde bulunan abdominal duvarın tabakalarını da skrotum içine sürüklediği için, parietal yaprağının dışında diğer tabakalar arasında abdominal duvarın kas tabakasından türeyen ince bir çizgili kas tabakası yer alır (Kalaycı 1986).

Testiküler kapsülün görevi; periyodik kontraksiyonlar yaparak testisin hacmini düzenlemek ve duktus sistemine masaj etkisi yaparak, spermiumların dışa doğru hareketinde yardımcı olmaktır (Kalaycı 1986).

1.3.3. Testisin Histolojik Yapısı

Rete testisin yer aldığı yerde testis, kalınlaşarak mediastinumu oluşturan Tunika albuginea ile çevrilidir (Abraham 2006). Mediastinum testisten bez içine giren radier seyirli ince fibröz bölmeler (septum) organı piramit biçimli lobüllere ayırır (250- 300 kadar) ve lobüllerin hacmi yerine göre değişir (orta kısımda bulunanlar büyük ve uzundur). Lobüllerin apikal kısımları (piramidin tepesi) mediastinuma doğrudur; ancak septumlar yer yer kesintili olduğundan lobüller birbirileriyle oldukça sıkı bağlanmıştır. Her lobülde 1-4 kadar sayıda aşırı kıvrımlı, tübüller yapıda seminifer tübüller ve tübüller arasını dolduran gevşek bağ dokusu (interstisyum bezin) stroması bulunur (Abraham 2006,Kalaycı 1986).

Seminifer Tübüller

Her tübül 150 mikrometre çapında ve 80 cm uzunluğundadır; iki ucu U şeklinde olan ve rete testise açılan tüplerdir (Abraham 2006). Tübüller komşu tübülle birleşen, ikili-üçlü anastomatik lup biçiminde başlarlar. Tübülün iki kolu her zaman aynı lobül içinde bulunmaz ve septumun kesikli olduğu yerlerden 2 lobül arası bağlantı kurulur. Lobülün tepesine doğru kıvrımlarını kaybederek, düz tüp biçimini alır (tübüli rekti). Tübüli rektiler boşaltıcı duktusların ilkidir (Kalaycı 1986).

Seminifer tübül iki belirgin hücre popülasyonu içeren özelleşmiş seminifer epitel ile döşenmiş merkezi bir lümenden oluşur (Abraham 2006). Seminifer tübül epiteli; modifiye çok katlı kübiktir. Epitelin üzerinde yerleşik olduğu bazal lamina, elastik fibrillerden zengin olup yaşlandıkça yoğunluğu artar ve kalınlaşır. Bazal laminanın dışında peritübüler doku bulunur. Peritübüler doku tabakalar halinde yerleşmiş bağ dokusu fibrilleri ve fibroblastlardan oluşur. En iç kısımda (bazal laminaya yakın) yassı epitele benzer miyoid hücreler bulunur.

Miyoid hücre; kendi içinde doğan impulslarla kontraksiyonlar yapabilen, fakat gerçek düz kas hücresi olmayan hücrelerdir. Birbirilerine membranlarıyla tutunur, ancak makromoleküllerin seminifer tübüle geçişini tamamen engellemezler.

Peritübüler dokunun dışında geniş lenfatik kapillerler bulunur. Bu sebeple peritübüler doku ve lenf kapillerinin, seminifer tübül ve kan arasında madde değişimine bir engel oluşturduğu ileri sürülmüştür (Kalaycı 1986).

Seminifer Epitel

Bazal lamina üzerine oturmuş seminifer epitelde 2 grup hücre bulunur:

1- Taşıyıcı Elemanlar: Sertoli hücreleri

2- Spermatogenetik Hücreler: Çoğalıp farklılaşarak spermiyumu oluşturan hücreler serisidir (sperma). Gonadta bulunduğundan gonosit terimi de kullanılır. (Kalaycı 1986).

Sertoli Hücreleri

Sertoli hücreleri puberteye kadar seminifer epitelin dominant hücrelerdir (Abraham 2006). Bazal lamina üzerine oturan seminifer epitelin bütün kalınlığınca uzanan, yüksek boylu, piramidal şekildedirler (Kalaycı 1986). Spermatogenetik hücrelere kıyasla az sayıda bulunurlar (Abraham 2006). Puberteden sonra, seminifer tübülleri döşeyen hücrelerin yaklaşık %10'unu oluştururlar (Abraham 2006). Germ hücreleri arasına, oldukça düzenli aralıklarla yerleşmiştirler (Kalaycı 1986).

Işık mikroskobunda incelendiğinde; oldukça düzensiz olan hücre sınırlarına sahip oldukları görülür (Kalaycı 1986, Abraham 2006). Sitoplazmaları; saydam, nukleusları; ince uzun, oluklu, hücrenin uzun eksenine paralel konumlu ve

kromatince fakirdir. Bu nedenle nukleolus belirgin olarak seçilir (Abraham 2006, Kalaycı 1986).

Elektron mikroskobunda incelendiğinde ise, apikal sitoplazmada (tübül lümenine bakan) spermiumların yerleşimine uygun girintiler vardır. Sitoplazmasının yan uzantıları spermatogonyum ve spermatositler arasına uzanır. Böylece seminifer epiteldeki değişik tipteki hücreleri bir arada tutar (Kalaycı 1986).

Nukleus; düzensiz, kromatinden fakir, 1-2 adet özel yapıda belirgin nukleolus taşır. Organelleri çoktur; çok sayıda mitokondri, endoplazmik redikulum (bol agranüler, az miktarda granüler tip) ve salgı granülleri içerir. Ayrıca golgi kompleksi, ribozomlar, mikrofibriller ve zengin bir hücre iskeleti (vimentin, aktin, mikrotübüller) içerir (Abraham 2006, Kalaycı 1986). Organellerin arasında lizozomların çok sayıda olması fagositik aktivitesine işaret eder. Spermatosit artıkları sertoli hücrelerince temizlenir (Abraham 2006, Kalaycı 1986). Sertoli hücreleri bazolateral bölgelerinde birbirileriyle zonula okludenslerle bağlanarak, seminifer tübül lümenini (intra tübüler aralık) çepeçevre kuşatan kesintisiz bir hücre tabakası oluştururlar (Abraham 2006, Kalaycı 1986).

Sertoli hücreleri arasında bulunan zonula okludensler sayesinde; ekstratübüler aralıktan intratübüler aralığa (lümen) makromoleküllerin geçişi engellenir. Bu sebeple ekstratübüler aralıkta yer alan spermatogonyumlar dışındaki germ hücrelerinin proteinleri kana ulaşamaz ve bunlara karşı antikor yapılmaz. Peritübüler doku ve sertoli hücreleri; kan testis engelinin morfolojik temelidir (Kalaycı 1986). Bazolateral okludens bağlantıları seminifer epiteli bir bazal ve bir adluminal kompartmana bölerler ve gelişmekte olan spermatositleri otoimmün reaksiyondan koruyan kan-testis bariyeri olarak adlandırılan elemanları belirlerler (Abraham 2006). Kan-testis bariyeri; spermatogenezin daha ileri safhalarında oluşur ve germinal hücreleri kandan gelen zararlı ürünlere karşı korur. Spermatogonyumlar bu bariyerin alt kısmında (bazal kompartmanda) yerleşmiş olup kandaki maddelerden serbestçe yararlanabilmektedirler. Bu bariyer seminifer tübüllere immünoglobulinlerin de geçmesini önler, bu sayede serumlarında yüksek düzeylerde sperm antikorları bulunan hastalarda, herhangi bir fertilite bozukluğu görülmez. Kan-testis bariyeri bu şekilde seminifer epiteli herhangi bir otoimmün reaksiyondan da korur (Junqueira ve ark 1998). Kan-testis bariyeri birçok büyük molekülün

intersitisyel doku ve tübülün bazal lamina yakınından (bazal kompartman), tübüler lümen yakınındaki bölgeye (adlüminal kompartman) ve lümene geçişini engeller. Ek olarak, gelişmekte olan germ hücreleri lümene doğru hareket ederken bu engeli geçmelidirler. Bu durum olasılıkla engelde bozulma olmaksızın germ hücrelerinin yukarısındaki sıkı kavşakların ilerleyici yıkımına eşlik eden germ hücrelerinin aşağısındaki sürekli yeni sıkı kavşak oluşumu ile gerçekleşir. Seminifer tübül lümenindeki sıvı plazmadan tamamen farklı olup, çok az miktarda protein ve glukoz içermektedir; sıvı androjenler, östrojenler, K^+, inositol, glutamik asit ve aspartik asit bakımından ise zengindir. Sıvının bu yapısının korunması muhtemelen kan-testis bariyerine bağlıdır (William 1995).

Sertoli hücrelerinin seminifer tübüle sürekli boşalan salgısı sperm ilerleyişini kolaylaştırır ve androjen bağlayıcı protein testosteronu bağlayarak, seminifer tübül içinde testosteron birikimini sağlar (testosteron spermatogeneziste etkindir) (Kalaycı 1986)**.**

Germ hücreleri, Sertoli hücreleri tarafından oluşturulan çevrede yaşadıkları için, sertoli hücreleriyle germ hücreleri arasında gerçekleşen parakrin uyarılar, germ hücre ölüm işlemini de düzenler. Germ hücre apoptozu, ya Sertoli hücre ön-yaşam faktörlerlerinde azalma, ya da Sertoli hücre pro-apoptotik faktörlerinde artış veya her ikisi tarafından uyarılabilir (Boekelheide ve ark 2000).

Olgun testiste bölünme göstermeyen sertoli hücreleri, birçok etkenlere karşı oldukça dayanıklıdır (ısı, radyasyon, toksik madde, enfeksiyon, beslenme yetersizliği gibi) (Kalaycı Ş 1986)**.**

Folikül uyarıcı hormon (FSH) sertoli hücrelerini etkileyerek spermatid olgunlaşmasındaki son evreleri kolaylaştırır ve ek olarak androjen bağlayıcı protein (ABP) yapımını da destekler (William 1995). Bu protein testosteron ve dehidrotestosteron bağlayarak hormonların taşınmasını, seminifer tübüllerde yüksek yoğunlukta ve stabil olmasını sağlar (Noyan 2008).

Sertoli hücreleri inhibin ve aktivin altünitelerini salgılarlar. İnhibin hipotalamustan ve ön hipofizden salınan gonadotropin salgılatıcı faktör ve FSH

üzerine negatif feedback (geri etki) bir etki gösterir. Aktivin ise FSH salınımı üzerine pozitif feedback bir etki gösterir.

Sertoli hücreleri puberteden sonra postmitotiktir. Erişkin testisinde mitotik hücre bölünmesi gözlenmez (Abraham 2006).

Özetle, androjenler (testosteron) ve FSH gametogenezis (spermatogenezis) fonksiyonunun devamını sağlar. Adenohipofizden salınan luteinize edici hormon (LH) ya da interstisyel hücre stimüle edici hormon (ICSH) Leydig hücrelerinin testosteron salgılamalarını uyarır (Noyan 2008).

Spermatogenetik Hücreler (Germ Hücreleri)

Bazal lamina ile lümen arasında bulunan 4-8 katlı hücre serisidir. Bu hücreler bir çok kez çoğalıp, farklılaşarak spermiyumları oluşturur. En genç ve bazal lamina üzerine oturan oldukça küçük hücreler spermatogonyumlardır (Kalaycı 1986)**.** Sertoli hücreleri arasında bulunan zonula okludens altında yer alırlar ve bu sebeplele kan-testis bariyerinin dışında yer alırlar (Abraham 2006). Çoğalan spermatogonyumlar baskı yaparak yeni gelişen hücreleri lümene doğru yükseltir. Sonuç olarak, lümene en yakın olanları spermiumları yaparlar (Kalaycı 1986)**.**

Spermatogonyum (Gonosit)

Spermatogonyumlar spermatogonyal kök hücreden köken alırlar ve pubertede başlayan başarılı mitotik hücre bölünmeleri geçirirler (Abraham 2006).

Spermatogonyum kendisinden gelişen hücre tipleri ile kıyaslandığında daha küçük olduğu görülür. Çekirdeğin büyüklüğü, biçimi, kromatin dağılımı ve histokimyasal özelliklerine göre 2 tpie ayrılır:

1- Tip A (Stem cell): Çekirdeği ovaldir. Mitozla çoğalınca yarısı tip A olarak kalır, diğer yarısı büyüyerek tip B'ye dönüşür yani tip A spermatogonyumların kaynağı durumundadır.

2- Tip B: Ana spermatogonyumlardan daha büyük hücrelerdir. Çekirdeği yuvarlak şekildedir ve koyu renkte boyanır. Tip B'nin mitozla çoğalmasıyla oluşan hücrelerin hepsi farklılaşarak primer spermatosit meydana gelir. Primer spermatosit bazal laminadan uzaklaşır ve hacmi artar (Kalaycı 1986)**.**

Primer Spermatosit (spermatosit-1)

Seminifer epitelin orta kısmında bulunan, küre ya da oval şekilli hacmi en büyük olan hücrelerdir. Oluşur oluşmaz birinci mayoz bölünmenin profaz evresine girerler. Profaz evresi çok uzun sürdüğü için en çok sayıda görülen hücre spermatosit-1'dir. 46 kromozom (diploid) taşır (Kalaycı 1986)**.**

Sekonder Spermatosit (spermatosit-2)

Primer spermatositin mayoz bölünmesi sonunda oluşan 23 kromozomlu (haploid) küçük hürelerdir (spermatosit 1'in 2/3 büyüklüğünde). Spermatosit 2'ler birbirilerine sitoplazmik köprülerle bağlıdır. Hemen kısa sürede 2. mayotik bölünmeye uğradıkları için kesitlerde görülmeleri çok zordur. Bölünmesiyle spermatidler meydana gelir (Kalaycı 1986)**.**

Spermatid

23 kromozom taşır. Spermatosit-2'nin yarısı büyüklüğe sahiptir. Birbirileriyle sitoplazmik bağlantı yapan sinsityal hücre kümesi oluştururlar. Primer spermatosit, sekonder spermatosit ve spermatidlerin arasında bulunan sitoplazmik köprüler spermatogenezisin düzenlenişinde rol oynar, hücreden hücreye bilgi aktarılmasına olanak verir. Spermatogenezis (spermatidin oluşumu) tamamlanınca bu köprüler kaybolur ve hücreler serbest hale gelir. Spermatid bölünmez, şekil değişikliği ile spermiuma dönüşür. Böylece spermatogonyumdan spermium oluşana kadar 2 evre bulunur. Spermatogonyumdan spermatid oluşması (çoğalma ve farklılaşma ile); spermatositogenezis, spermatidin şekil değiştirerek spermiumu oluşturması; spermiogenezis'tir (Kalaycı 1986)**.**

Spermiogenezis; küre ya da poligonal şekilde olan spermatidin sferik nukleusunun kromatini yoğun olup merkezi yerleşimlidir. Çekirdeğe yakın iyi gelişmiş golgi kompleksi, çok sayıda mitokondri ve bir çift sentriol bulunur.

Spermatogeneziste yukarıda sayılan organellerin hepsinde değişim olmaktadır. Bu olay dizisi şu şekilde özetlenebilir;

1- Golgi Evresi: Golgi bölgesindeki küçük veziküllerde karbonhidrattan zengin granüller birikir (proakrozomal granül). Sonra granüllerin birleşmesiyle tek büyük bir granül oluşur, çevresel membranla kuşatılmış olan bu granüle akrozomal granül (akrozomal vezikül) denir. Golgi kompleksinden türeyen akrozomal vesikül

çekirdeğe doğru ilerleyerek çekirdek dış zarına yapışır. Çekirdek yüzeyinde giderek büyüyerek, çekirdeği yarıya kadar örter. Akrozomal vesikülün içerdiği sıvı rezorbe olunca, büzülür ve çekirdeği kep gibi saran 2 yapraklı kese durumuna geçer. Akrozomal maddelerin kep içinde dağılması ile yapısını tamamlar ve akrozomal kep (akrozom) adını alır. Akrozomda birçok hidrolitik enzim bulunur. Bu sebeple akrozom özel tip lizozom olarak yorumlanabilir. Bu enzimler korona radiata hücrelerinin ovumdan ayrılmasında ve zona pellusida'nın sindirilmesinde rol oynarlar.

2- Sentriollerin Yer Değiştirmesi ve Flagellumun Oluşması: Çekirdeğin bir kutbunda akrozom gelişirken karşı kutbunda sentrioller yerleşir. Çekirdeğe yakın olan sentriolden (bazal sentriol) silindirik bir flagellum uzanır. Flagellum uzadıkça çevresinde ince, fibriler bir kılıf oluşur. Flagellum spermiumun kuyruk kısmını yapar. Diğer sentriol (distal sentriol) kuyruğun başlangıç kısmına yakın bir yere göç ederek flagellumu bir halka gibi kuşatır (annulus).

3- Sitoplazmik Kayıp: Sitoplazmanın bir kısmı kuyruk ucuna doğru kayarak flagellumu kuşatır, geri kalanıda rezidual cisim şeklinde dışarıya atılır. Sertoli hücreleri tarafından fagosite edilir. Farklılaşma ilerledikçe sitoplazma fazlası atılmakta, sadece çekirdeği, orta parçayı ve falgellumu saran ince bir tabaka halindeki sitoplazması geride kalmaktadır. Sertoli hücrelerinin lizozomdan zengin oluşu, atılan sitoplazmanın sindirilmesini sağlar. Sertoli sitoplazması içinde sindirilemeyen lipit damlacıkları artık olarak birikir.

4- Mitokondrilerin Göçü: Mitokondriler bazal sentriol ve annulus arasına spiral olarak yerleşir. Böylece flagellumun ilk bölümü mitokondrial bir kılıf ile kuşatılır. Flagellumun fonksiyonu için, gerekli enerjiyi mitokondriler sağlar. Flagellum hareketi mikrotübüller arasındaki karşılıklı ilişki, ATP ve dynein denen proteinle ilgilidir. Spermium ayrıca erkek genital bezlerden seminal sıvıya verilen salgı içindeki karbonhidratları da enerji kaynağı olarak kullanmaktadır.

5- Nukleus Değişimi: Nukleus kromatini yoğunlaşmaya ve yassılaşmaya başlar. Hücre membranına doğru yer değiştirir. Nukleus akrozom ve çevresindeki az miktardaki sitoplazmayla birlikte spermiumun baş kısmını yapar. Akrozomal kepin

arka kenarında nukleus çevresinde mikrotübüller silindirik bir bant oluşturur. Bu bant nukleusun ince uzun bir şekil alması ve yassılaşmasında rol oynar. Olgun spermatidlerde kuyruklar tübül lümenine doğru uzanır. Sertoli hücreleri tarafından lümene serbest bırakılan olgun hücrelere spermium (spermatozoon) denir. Bu sırada morfolojik olarak matur, fakat fonksiyonel olarak immatürdür. Hareketsizdir ve ovumu dölleme yeteneği sınırlıdır.

6- Olgunlaşmanın Son Adımı Olarak Kapasitasyon: Ejakülasyondan sonra (seminal sıvının boşalması) kadın organizması içinde fertilizasyondan az zaman önce spermde görülen enzimatik değişikliktir. Kapasitasyon yaklaşık 7 saat sürer, morfolojik bir değişim olmaz (Kalaycı 1986)**.**

Meydana geldiği düşünülen değişimlerin bazıları şöyledir;

- Uterus ve fallop kanallarında bulunan sıvılar, erkek genital kanalındaki sperm aktivitesini baskılayan ve ortadan kaldıran farklı inhibitör faktörleri yok eder.
- Spermatozoa erkek genital kanal sıvısında bulunduğu zaman sürekli olarak, seminifer tübüllerden gelen ve yüksek oranda kolesterol içeren birçok vesikülle karşılaşır. Vesiküllerdeki kolesterol devamlı şekildedir. Sperm akrozomunu çevreleyen membranının sağlamlaşması sağlanırken, enzimlerin serbestleşmesi engellenir. Ejakülasyon sonrası, vajinada depolanan spermler ve kolesterol vesikülleri uterus sıvısına katılır. Ardından birkaç saat içinde kolesterolün büyük miktarda kaybolduğu görülür. Bu durumda spermin baş bölgesinde membran zayıflar.
- Aynı zamanda spermin baş bölgesindeki membranın kalsiyum iyonlarına karşı geçirgenliği artar. Kalsiyumun sperme büyük miktarlarda girişi flagellum aktivitesini değiştirir. Böylece eski güçsüz dalgalı hareketi yerine güçlü hareketlere başladığı görülür. Buna ek olarak kalsiyum iyonları akrozomun, baş bölümünde membranın intraselüler yapısında değişmelere neden olur. Akrozomun enzimlerini hızlı ve kolay olarak serbestleştirecek hale getirir. Bu değişim sayesinde doğru hareket eder, hatta ovumun zona pellusida bölgesine girmeye çalışır. Böylece kapasitasyon döneminde birçok değişiklik ortaya çıkar. Onlar olmadan, sperm fertilizasyon için ovuma gideceği yolu bulamaz (Guyton 2005).

Spermiumlar seminifer tübül ve boşaltıcı duktus sistemi içindeyken hareketli değildir. Yani ilerlemesi sırasında flagellum hareketi yoktur. Spermium epididimise sertoli ve rete testis hücreleri tarafından salgılanan testiküler sıvı içinde taşınır. Seminifer tübül duvarında bulunan myoid hücrelerin, efferent tübüllerden itibaren duktus duvarlarında bulunan düz kas tabakasının kontraksiyonu, spermin ilerleyişinde yardımcıdır (Kalaycı 1986).

Spermatogenezi Uyaran Hormonal Faktörler

1- Testosteron: Testislerde interstisyumda yerleşim gösteren Leydig hücreleri tarafından salgılanır. Sperm oluşumunda germinal hücrelerin bölünmeleri ve gelişmeleri için gereklidir.

2- Lüteinizan Hormon: Ön hipofiz bezinden salgılanarak, Leydig hücrelerini uyararak, testosteron salgılanmasını sağlar

3- Folikül Stimulan Hormon: Ön hipofiz bezinden salgılanır. Sertoli hücrelerini uyarır. Bu stimülasyon olmadan spermatidlerin spermlere dönüşümü (spermiogenez olayı) olanaksızdır.

4- Östrojen: Folikül stimulan hormon ile uyarılan sertoli hücrelerinde testosteron ile birlikte yapılır.

5- Büyüme Hormonu (ve diğer bir çok hormon): Testislerin temel metabolik fonksiyonlarının kontrolü için gereklidir. Büyüme hormonu, özellikle spermatogonyumların erken bölünmesini hızlandırır (Guyton 2005).

Olgun Spermium-Spermatozoon

Silindirik biçimli, total uzunluğu 55-65 mμ olan hareketli hücrelerdir. 4 kısımdan oluşur:

1- BAŞ: Yassı armut şeklindedir. Fusiform şekilli, kromatinden zengin çekirdeği ve akrozomal kepi (galea kapitis) taşıyan bölümdür. Hepsini dıştan hücre zarı kuşatır. Çekirdeğin yoğun olması hacmini küçültür, böylece hareketliliği artar. Akrozomal membran çekirdek zarına yapışıktır. Lizozomal enzimlerin akrozomda bulunuşu (hyaluronidaz dahil) fertilizasyonda yardımcıdır. Ovumu kuşatan zona pellusida glikoprotein bir tabakadır, hyaluronik asidi içerir.

2- BOYUN: Spermin baş ile orta parçasını bağlayan kısa bir bölümdür. Proksimal sentriol ve bundan çıkarak orta parçaya giren longitudinal seyirli kaba

fibriller bulunur. Flagellumun elektron mikroskobik yapısında 9 çift periferik, bir çift sentral mikrotübül görülür.

3- ORTA PARÇA: Tipik flagellum ve mitokondrial kılıf bulunur.

4- KUYRUK: En uzun kısımdır. Flagellum çevresindeki kaba longitudinal fibriller başlangıç kısmında görülür daha sonra kaybolur. Orta parçadaki mitokondri kılıfı kuyrukta yoktur. Elektron mikroskobunda bakıldığında flagellumun çevresinde, fibröz kılıf ince bir sitoplazma ve plazmalemma görülür. Kuyruğun son kısmında fibröz kılıf kaybolur. Sadece flagellum yapıyı oluşturur (Kalaycı 1986).

Olgun spermatozoon üretimi insanda 70 ± 4 günlük bir zamanda tamamlanır. Sıçanlarda izlenen süreçte benzer şekilde gelişir; ancak yaklaşık 50±4 gün sürer. Seminifer epitel siklusu; epitelde belli bir hücre evresinin ardışık iki görünümü arasında oluşan maturasyon değişiklikleri dizisini ifade eder. Bu evreler; sıçanda 14, fare ve maymunda 12, insanda 6 basamaklıdır (Ross ve Romrell 1989).

1.4. Olgun Spermin Fizyolojisi

Normal olarak harekete sahip ve fertil olan spermler, flagellalarının hareket yeteneği ile sıvı ortamda dakikada yaklaşık 1-4 mm hızla ilerleyebilir. Sperm aktivitesi ejakülat semeninde olduğu gibi, nötral ve hafif alkalik ortamda büyük bir artış gösterir; ancak orta derecede asidik ortamda büyük ölçüde baskılanır. Kuvvetli asit ortam spermlerin hızla ölümüne neden olur. Sperm aktivitesi ısı artışı ile belirgin artış gösterir, ancak bu koşullarda metabolizma hızı da yükselerek spermin ömrünü önemli ölçüde kısaltır. Sperm testislerin genital kanallarında birkaç hafta canlı kalabildiği halde, kadın genital kanalında sadece 1 veya 2 gün yaşar (Guyton 2005).

1.5. İnterstisyel Doku

Seminifer tübüllerin arasını dolduran bağ dokusundaki kapillerler pencereli tiptedir. Fibroblast, makrofaj, mastosit, indiferensiye mezenkimal hücre bulunur. Puberteden sonra Leydig hücresi (interstisyel hücre) görülmeye başlar (Kalaycı 1986).

1.5.1. Leydig Hücresi

Leydig hücreleri erken fetal hayatta gelişen testiste, çok sayıda bulunur. Büyük ovoid ya da poligonal şekildeki hücrelerdir. Sitoplazması lipitten zengindir.

Hematoksilen eosin boyamalarında lipit eridiği için sitoplazma vakuoler ve granüler görünüm kazanır, oldukça açık renkte boyanır.

Büyük olan çekirdeği çoğunlukla eksentriktir. Sitoplazmasında çubuk biçimli kristaloidler (reinke kristali) görülür. Kristalin yapıda sitoplazmik proteindir, fonksiyonu tam bilinmemektedir. Ayrıca yaşlılıkla birlikte sayısı artan lipokrom pigmenti bulunur. Organel yapısı steroid hormon sentezleyen hücreye uygundur (agranüler Endoplazmik retikulum, mitokondri, lipit) (Kalaycı 1986)**.** Leydig hücre toplulukları, kan damarları ve lenfatik kanal veya sinozoidler yakınında, intertübüler alanda yerleşmiştir, birçok steroid üreten hücre gibi Leydig hücreleri lipid damlacıkları, karakteristik tübüler kristali, mitokondriyonlar ve iyi gelişmiş bir düz endoplazmik retikulum içerir (Abraham 2006). Plasental kökenli gonadotropinlerin kan yoluyla fetal testise ulaşıp, Leydig hücrelerini uyarması sonucunda Leydig hücreleri hormon üretmeye başlar. Sentezledikleri testosteron erkek genital organların embriyolojik farklılaşmalarında etkilidir. Kökeni; muhtemelen indifferensiye mezenkimal hücreler ve fibroblastlardır (Kalaycı 1986)**.**

Leydig hücreleri insanda testis hacminin %12'sini oluşturur. Tek ya da gruplar halinde sıklıkla üçgen biçimli kümeler halinde, bazen kan damarına yakın bulunurlar. Makrofajlarla yakın komşuluktadırlar (Kalaycı 1986)**.** Serumda bulunan testosteronun yaklaşık %95'i Leydig hücreleri tarafından sentezlenir; kalan testosteron adrenal korteks tarafından üretilir (Abraham 2006).

Androjen (testosteron) sentezler testosteron yapımıyla ilişkin enzimlerin varlığı Leydig hücresinde saptanmıştır, Leydig hücre tümörlerinde erken puberte oluşumu, testosteron sentezinin başka bir kanıtıdır (Kalaycı 1986)**.**

1.6. Testiste Dejeneratif ve Rejeneratif Olaylar

İnsanda pubertede başlayan spermiogenezis sürekli olarak devam eder. Seminifer tübüllerde belirli sınırlar içinde dejenere spermatogenetik hücrelere rastlanır. Yine anormal spermatogenetik hücreler de sıklıkla görülür. İki çekirdekli spermatid gelişimini sürdürürse iki kuyurklu ya da bir kuyruk iki başlı sperm oluşur. Anormal spermler normallerle birlikte epididimise gider, bir kısmı burada dejenere olur, geri kalanları ejakülat sıvısında bulunabilir.

Zararlı etkenlere karşı spermatogenetik hücreler duyarlıdırlar. Genel patolojik durumlarda (infeksiyon hastalıkları, alkolizm, diyet yetersizliği) ve yerel patolojilerde (iltihap) dejenere olurlar. Spermatidlerin birleşmesiyle çoğunlukla çok çekirdekli dev hücreler oluşur. Kadmium tuzları spermatojenik hücreler üzerine oldukça toksiktir, bu hücrelerin ölümüne neden olur. Testise yeterli dozda X-ışını verilirse spermatogenetik hücrelerde yaygın dejenerasyon ve kısırlık gelişir (Kalaycı 1986).

Diyabetin, gonadal fonksiyonları etkileyerek, düşük testosteron düzeyleri, testiküler disfonksiyon ve yetersiz spermatogenez oluşturduğu insanlarda ve deney hayvanlarında gösterilmiştir . Diyabete bağlı olarak testislerde, Tunika albugineada, Seminifer tübüllerde, interstisyel bağ dokusu içinde ve Leydig hücrelerinde histolojik değişiklikler izlenmektedir (Öztürk ve ark 2002).

Spermatogenetik hücreler yüksek ısıya dayanıklı değildir. Skrotum içi vücut ısısından düşük olduğu için uygun bir ortamdır (Kalaycı 1986). Spermatogenezis genellikle vücut ısısından düşük bir ortamda gerçekleşir (Kalaycı 1986), testis sıcaklığı yaklaşık 32 ^{o}C 'de olmalıdır (William 1995).

Zararlı etkenler ortadan kalkarsa, geri kalan spermatogonyumlardan seminifer epitel rejenere olur. 35 yaşın üstündeki insanlarda az miktarda atrofik tübül vardır. Çok yaşlılarda tüm seminifer tübüllerdeki speratogenetik hücreler tükenebilir (Kalaycı 1986).

1.7. Testisin Boşaltıcı Duktusları

1- Tübüli rekti
2- Rete testis
3- Duktuli efferentes
4- Duktus epididimis
5- Duktus deferens
6- Ampulla duktus deferens
7- Duktus ejakulatoryus

1.7.1. Tübüli Rekti

Her lobülün tepesinde seminifer tübüller düz seyirli tübüli rektilerle devam eder. Seminifer tübül epiteli tübüli rektilere doğru biraz değişiklik göstermeye başlar; spermatogenetik hücreler giderek ortadan kaybolur, sertoli hücreleri ise sayı olarak artar. Sonunda tübüli rektilerde sadece yapısı biraz değişmiş olan (sitoplazmasında çok fazla yağ bulunduğundan çok vakuollü, çekirdek kromatini yoğunlaşmış) sertoli hücreleri bulunur. Tübüli rektiler çok kısa yapıdadır. Epiteli tek katlı kübiktir. Çevresinde mediastinum bağ dokusu bulunur (Junqueira ve ark 1998, Kalaycı 1986).

1.7.2. Rete Testis

Tunika albuginea'nın kalınlaşmasıyla oluşmuş, damardan çok zengin olan mediastinum içine yerleşmiş, birbirileriyle anastomozlaşan tübüler yapılardır. Bölece tübülus ağı oluştuğundan rete (ağ) terimi uygundur (Junqueira ve ark1998, Kalaycı 1986,). Epitel basit kübik ya da yassıdır. Bu nedenle lümenler düzensiz olarak izlenir. Bazı epitel hücreleri tek bir sil taşır. Nukleusları çok koyu boyanır. Bazal membran altında spesifik bir lamina propria bulunmaz, tübüller mediastinum bağ dokusuyla kuşatılmıştır. Spermiumlar tübüli rekti ve rete testisten hızla geçtiği için, kesitlerde lümende spermiuma çok nadiren rastlanır (Kalaycı 1986)**.**

1.7.3. Duktuli Efferentes

Testisin arka kenarının üst kısmında 8-15 kadar sayıda spiral seyirli efferent duktuslar, rete testisi izler. Her biri konik biçimli epididimis lobülünü yapar. Lobüllerin apeksleri mediastinum testise yöneliktir. Tüm duktuli efferentesler ortak bir bağ dokusu ile kuşatılarak epididimisin başını oluşturur. Her bir duktus yaklaşık 2 cm uzunluktadır. Testisin arkasında tunika albugineanın dışında yer alan ince uzun biçimli epididimis'in 3 kısmı bulunmaktadır.

- Baş ya da Globus Major; en üstte yer alan genişlemiş kısım
- Korpus; ortadaki daralmış bölüm
- Kuyruk ya da Globus Minor; biraz kalınlaşmış olan en alt bölüm.

Duktuli efferentesler çok kıvrımlı olduklarından değişik düzlemlerdeki kesitleri görülür.

✓ Epitel; bunlar epididimis yönüne doğru hareketi sağlayan silyalı hücrelerle değişimli olarak silyasız kübik hücre gruplarından oluşan bir epitele sahiptir. Bu epitele tarak şeklindeki karakteristik görünümünü verir. Silyasız hücreler

seminifer tübüllerden salgılanan sıvının çoğunu absorbe eder. Silyalı hücre aktivitesi ve sıvı abzorbsiyonu spermatozoonların epididimise doğru süpürülmesini sağlayan bir sıvı akımı sağlar (Junqueira ve ark 1998).

- ✓ Bazal Membran; epitel belirgin bir bazal membrana oturur.
- ✓ Lamina Propria; kapillerlerden zengin ince sirküler seyirli düz kas fibrillerini içeren bağ dokusudur. Boşaltıcı tübüllerin çevresinde düz kasın görülmeye başladığı yer duktuli efferenteslerdir.

Tüm duktus sisteminde hareketli sil sadece duktuli efferenteslerdedir. Spermiumların epididimise geçmelerine yardımcı olur. Epididimis içinde spermiumlar henüz hareketlilik kazanmamıştır (Kalaycı 1986).

1.7.4. Duktus Epididimis

4-6 m uzunlukta , aşırı kıvrımlı tek bir duktustur. Çevresindeki damardan zengin bağ dokusu ile birlikte epididimisin korpus ve kuyruk kısımlarını oluşturur. Çok kıvrımlı olduğu için enine kesitlerde tek tübül yerine çok sayıda kesitine rastlanır. Duktuli efferenteslerden ayırmada en önemli kriter hem dış hem de iç sınırlarının düzgün oluşudur (lümeni düzgün) (Junqueira ve ark 1998, Kalaycı 1986).

- ✓ Epitel; psödostrafie'dir.
- ✓ Bazal hücreler; bazal membrana oturmuş fakat lümene kadar erişmeyen hücrelerdir. Konik ya da yuvarlak biçimli olan bazal hücreler açık renkli boyanırlar.
- ✓ Silindirik hücrelerin; hepsi aynı boydadır ve lümene kadar ulaştığından lümen düzgündür. Streosillia (hareketsiz sil) taşırlar. Elektron mikroskobik incelemelerde yapısında bulunan silde; mikrotübül sistemi, bazal cisimin bulunmadığı, sadece granüler sitoplazmaya sahip, membranla çevrili sitoplazmik uzantılar olduğu görülmüştür. Bu yapı özelliği mikrovillus'a benzer. Yalnızca bunların daha uzun oluşları, çatallanma göstermeleri mikrovillustan ayrılan özellikleridir. Bu nedenle sil terimi yerine modifie mikrovillus demek daha doğru olur (Kalaycı 1986).

Duktus epididimisin epiteli spermatogenez süresince atılan artık cisimciklerin ortadan kaldırılması ve sindirilmesine katılır (Junqueira ve ark 1998).

Sitoplazmalarında lipit damlaları, pigment granülleri, lizozom bulunur. Modifie mikrovillus ve lizozom bulunuşu absorbtif rolüne işaret eder. Testiküler sıvının %99'u epididimiste absorblanır. Deneysel olarak duktuli efferentesler bağlandığında 12-24 saat içinde testeste aşırı sıvı birikimi sonucu tübüler epitel baskı altında kalarak atrofiye olur. Lizozomal aktivite ile fagosite ettikleri parçaları eritirler. Spermler epididimis içinden çok yavaş geçmektedir (6 hafta gibi uzun süre). Silindirik hücrelerde salgı yapımı da gerçekleşir. Salgısı, spermium maturasyonuna etkilidir; spermin hareketlilik kazanması, yaşamını sürdürmesi ve fertilizasyon yeteneğinin artıtılmasında rol alır. Spermiumlar epidimis içinde hareket etmeye başlarlar (Kalaycı 1986)**.**

- Bazal lamina; düzgün sınırlı, epitelin oturduğu yapıdır.
- Lamina Propria; az miktarda sirküler kas fibrilleri ayrıca longitudinal kas fibrilleri yapıya eklenir. Spermin ilerlemesini kolaylaştıran kas kontraksiyonları spontan ve ritmiktir. Epididimisin kuyruk kısmında kas kontraks,yonları çok azalmıştır ve spermin başlıca depo yeridir. Spermler burada 2 hafta kalır. Sempatik sinirlerle innerve kuyruk bölümü kasları ejakülasyon refleksiyle kuvvetli olarak kasılır (Kalaycı 1986)**.**

1.7.5. Duktus Deferens

Duktus epididimisin kuyruk kısmından sonra duktus deferensle devam eder. Testisin arka kenarı boyunca aşağıya inen duktus deferens, kanalis inguinalisi katederek pelvisin yan duvarları boyunca üretraya doğru ilerler, üretranın prostatik kısmında sonlanır. Prostata girmeden hemen önce iğ biçimli bir genişleme yapar (ampulla duktus deferens). Ampulla daralarak ince duktus ejakulatoryusu oluşturur. 2 duktus ejakulatoryus prostat içinde seyreder, utrikulus prostatikusun iki yanından üretraya açılırlar. Tam gergin duruma getirilmiş duktus deferens yaklaşık 0,5 m uzunluktadır. Başlangıç bölümü çok kıvrımlıdır (Kalaycı 1986)**.** Kalın müsküler duvarlı, lümeni dar, tübüler bir yapıdır (Junqueira ve ark 1998).

3 tabakadan oluşur;

1- Tunika Mukoza: Lümene doğru 4-5 kadar longütudinal kıvrılmalar yaptığı için lümen yıldız şeklinde izlenir.

a) Epitel: Duktus epididimisten daha ince psödostratifiye-silindirik tiptedir. Bazı hücrelerde stereosilia bulunabilir.

b) Lamina Propria: Elastik fibrillerden oldukça zengin bağ dokusu katmanıdır. Kas tabakasına yakın bölümü damardan zengindir.

2- Tunika Muskularis: En kalın tabakadır (1-1,5 mm kalınlıkta). İç ve dışta longitudinal, ortada sirküler yönlü düz kas fibrillerinden oluşur. En iyi siküler tabaka gelişmiştir. Hem kuvvetli kas tabakasının bulunuşu hem de lamina propriadaki elastik fibriller nedeniyle mukoza kıvrılarak lümene yıldız görüntüsünü kazandırır.

3- Tunika Adventisya: Bol kan damarı ve sinir içeren fibroelastik bağ dokusudur. Az sayıda düz kas fibrilleri görülür. Spermatik kordonun bağ dokusu ile kesin bir sınır çizmeksizin devam eder (Kalaycı 1986).

1.7.6. Ampulla Duktus Deferens

Duktus deferen prostata girmeden önce ampulla denen kısmı oluşturur (Junqueira ve ark 1998). Bu kısmın duktus deferense göre lümeni daha geniş, epiteli daha kalın, mukozada kıvrımlar daha fazladır. Enine kesitte epitel kıvrımlarının birbirleriyle kaynaşmalar, dallanmalar yapmaları nedeniyle, lümen üçgenimsi gözenekleri olan ağımsı bir yapı şeklindedir (Kalaycı 1986). Burada epitel kalınlaşır ve oldukça fazla kıvrımlar yapar (Junqueira ve ark 1998). Kübik ya da silindirik salgılayıcı tiptedir. Sitoplazmasında bol salgı granülü ve sıklıkla sarı renkli pigment bulunur. Tunika muskularis; duktus deferense kıyasla daha incedir (Kalaycı 1986).

1.7.7. Duktus Ejakulatoryus

Ampulladan sonra duktus deferens prostata girer ve prostatik üretraya açılır. Prostata giren kısım duktus ejakulatoryus kısmıdır (Junqueira ve ark 1998). Yaklaşık 2 cm uzunlukta olan duktus ejakülatoryusun mukozası çok incedir ve çok ince kıvrımlar yapar. Ampulladakine benzer kriptalar oluşturur. Epiteli; psödostratifiye ya da basit silindiriktir. Üretraya yakın bölümü üretra epiteline (transizyonel) değişir. Epiteli salgılayıcı tiptir (Kalaycı 1986).

1.8. Testisin Fonksiyonları ve Bu fonksiyonların Hormonal Denetimi

1.8.1. Ekzokrin Fonksiyonu (Spermium Yapımı):

Aktif holokrin tipte salgıdır. Günlük sperm yapımını doğru olarak saptamak mümkün değildir; ancak her ejakülatta 200-300 milyon sperm bulunur. Bu kadar çok

sperm yapımı için 2 testiste bulunan ortalama 800-1200 adet semnifer tübül (her birinin boyu 30-70 cm) çok geniş ve uzun bir yüzey oluşturmaktadır.

Sperm yapımını kontrol eden birçok etken vardır; Luteinizan hormon (interstisyel cell stimulan hormon) LH-ICSH; hipofizden salgılanır. Leydig hücrelerinde androjen yapımını uyarır. Androjen sperm maturasyonu için gereklidir. Hipofizin çıkarılması halinde dışarıdan androjen verilmesiylede spermiyogenezis sürdrülür. Bu nedenle hipofizden salgılanan FSH (folikül stimülan hormon) ın rolünün minor olduğu kabul edilir (Kalaycı 1986). FSH, sertoli hücrelerine etki ederek sertoli hücrelerinde androjeni bağlayan protein sentezini uyarır bu protein androjenle birleşip lümene salgılanır. Seminifer tübül lümeninde biriken androjen spermiogenezisi tamamlatır. Ayrıca sertoli hücreleri ve rete testisten spermin yaşaması ve epididimise taşınmasında rolü olan testiküler sıvı salgılanmaktadır. Bu sıvı steroid, protein, iyon ve özgül androjen bağlayan proteini içerir (Kalaycı 1986).

1.8.2. Endokrin Fonksiyonu

Testisin esas hormonu bir steroid olan testosteron'dur. Bu hormon testisin Leydig hücrelerinde kolestrolden sentezlenir (Noyan 2008). Androjen hem yerel olarak seminifer tübüllere hem de kan yoluyla taşınarak erkek genital sistem bezlerine ve diğer birçok organa etki eder (Kalaycı 1986)**.**

Testosteron salgılanması luteinize edici hormonun (LH) kontrolü altında gerçekleşir (Noyan 2008)**.** Leydig hücreleri ısıya duyarlı değillerdir. Böylece inmemiş testis olgularında bile testosteron aktivitesi sürer ve sekonder cinsiyet karakterleri gelişir (ancak sterilite vardır). Prostat, vezikula seminalis ve glandula bulbo-üretralis (erkek genital yardımcı bezleri) testosteronun denetimindedir (Kalaycı 1986). Spermatozoa için temel besin kaynağı olarak işlev gördüğü düşünülen fruktozun sekresyonu prostat ve seminal veziküllerden başlar (William 1995). LH'nın Leydig hücrelerini uyarması cAMP yoluyla gerçekleşir. cAMP kolesteril esterden kolesterol şekillenmesini artırır ve protein kinazın aktive edilmesi ile kolesterol pregnolon'a çevrilir. Kolesterolden pregnolon sentezi mitokondri'de gerçekleşir; pregnolon mitokondriyi terk eder ve mikrozomal enzimler aracılığı ile progesterona dönüştürülür. Leydig hücrelerinin endoplazmik retikulumunda progesteron önce androstenedion'a buda testosterona dönüştürülür (Noyan 2008).

1.8.2.1. Testosteronun Etkileri

Erkek cinslik organlarının tümünün (penisin, sperma kanalları ve yollarının, bezlerinin) yapısı ve fonksiyonu testosteron varlığına bağlıdır. Deney hayvanlarında testisler çıkarılınca bütün erkek üreme organlarında küçülme görülür, bezlerin salgısı iyice azalır, sperma kanallarının düz kas aktivitesi önlenir, ereksiyon ve ejakulasyon genellikle yetersizdir. Testosteron verilirse bütün bu durumlar ortadan kalkar, reprodüksiyon normale döner. Erkekte seksüel davranışları testosteron azlığına ya da çokluğuna bağlamak, normal dışı seksüel davranışları testosteron azlığına ya da çokluğuna bağlamak yanlıştır (Noyan 2008).

Testosteron protein sentezini arttırırken, yıkımını azaltır; büyüme hızını etkiler. Kemik büyümesini sağlayan epifiz kısmının uzun kemiklere eklenmesini oluşturarak kemik büyümesini durdurur. Testosteronun esas etki yeri olan prostat ve diğer birkaç dokuda testosteron, 5a-redüktaz enzimi aracılığı ile, dihidrotestosteron'a çevrilir. Bu dokularda esas hormon etkisini gösteren, testosterondan çok dihidrotestosterondur. Fetusta dış cinslik organlarının ve prostatın gelişmesi; ergenlik çağında sakal, bıyık çıkması, alında saç çizgisinin geriye kayması gibi değişiklikler dihidrotestosteron tarafından meydana getirilir. Fakat ergenlik çağında penisin büyümesi, kas kütlesinin artması, karşı cinse ilgi ve libido (seks isteği) doğrudan testosteron tarafından meydana getirilir (Noyan 2008).

İnhibin

Testosteron plazma LH düzeyini azaltırken yüksek dozlar haricinde plazma FSH düzeyini etkilemez. Seminifer tübül atrofisi bulunan fakat testosteron ve LH sekresyon düzeyleri normal olan hastalarda plazma FSH değeri yükselir (William 1995).

Steroid Feedback

Kastrasyon ile hipofizin FSH ve LH içerikleri ve bunların sekresyonu artmakta, hipotalamik lezyonlar ise bu artışı engellemektedir. Ön hipofiz üzerine direkt etkiyle ve hipotalamustaki GnRH sekresyonunu inhibe ederek, testosteron LH sekresyonunu baskılamaktadır. İnhibin ön hipofizi direkt etkileyerek, FSH sekresyonunu inhibe etmektedir.

LH'a yanıt olarak Leydig hücrelerinden salgılanan testosteronun bir kısmı seminifer epitelyumu yıkamakta ve Sertoli hücrelerine normal spermatogenez için gerekli olan yüksek bir lokal androjen yoğunluğu sağlamaktadır. Sistemik yolla verilen testosteron testisteki androjen düzeyini önemli bir ölçüde arttırmamakta ve LH sekresyonunu inhibe etmektedir. Sonuç olarak, sistemik yolla uygulanan testosteronun net etkisi genellikle azalmış sperm sayısıdır. (William 1995)

1.9. Diyabet

Diyabet ya da şeker hastalığı olarak bilinen "diabetes mellitus", adını yunan dilinde diabetes= akıp giden (idrar) ve mellitus= tatlı olarak telafuz edilen şeker (glukoz) kelimelerinin birleşiminden alan metabolik bir hastalıktır. Diyabette, kan şekeri kontrol edilemez ve hiperglisemi olarak adlandırılan kan şekeri artışı meydana gelir (von Mering ve Minkowski 1889).

Diabetes mellitus (DM), insülin salgısında, etkisinde ya da her ikisinin de eksikliğinden kaynaklanan ve hiperglisemiyle seyreden metabolik bir bozukluktur. İnsülin karbonhidrat metabolizmasının düzenlenmesinde etkilidir. Pankreasta, Langerhans adacıklarında bulunan β hücrelerine glukozun girmesiyle başlar. Glukoz β hücrelerine girer ardından glukoz -6- fosfata dönüştürülür. Bunu oluşturan ATP, ATP kapılı potasyum kanallarını uyarıp potasyumun hücre dışına çıkmasını sağlar. ATP-kapılı potasyum kanallarının kapanmasıyla gerçekleşen depolarizasyon olayı, voltaj kapılı kalsiyum (Ca) kanallarının açılmasına ardından hücre içine Ca'un girmesine sebep olur. Bu olay, insülin veziküllerini membrana doğru hareket ettirir böylece insülin hücre dışına salınmış olur (Champe ve Harvey 1997) .

Diyabet ise, pankreatik bir hormon olan bu insülin hormonunun yetersiz salınması, hiç salınmaması (ADA 2005, Baydaş ve ark 2002, Walter ve ark 1991) veya etkisinin azalmasıyla görülen metabolik bozukluklar ve multi sistemik rahatsızlıklara neden olan endokrin bir hastalıktır (Çelik ve ark 2002, Murray ve ark 1996).

Kandaki şeker (glukoz) konsantrasyonu, insülin tarafından kontrol edilir. Normal koşullarda besinlerden elde edilen veya karaciğerdeki depolardan kana salınan glukoz, insülin hormonunun yardımıyla hücre içine alınır ve metabolik yollara katılarak enerjiye dönüştürülür. İnsülin, vücudumuzu oluşturan tüm

hücrelerin enerji ihtiyaçlarını karşılamak için kullandıkları glukozun hücre içine alınmasında anahtar göreve sahip bir peptid hormondur. Kandaki glukoz konsantrasyonu, ya insülin hormonunun yeterince salgılanamaması ya da yeterince salgılanabilmesine rağmen hücrelerin insüline direnç göstermesiyle glukozun hücre içine alınamaması sonucunda artmaktadır (Tuncer 2008). İnsülinin glukoz transportunda üstlendiği görev, glukoz taşıyıcıların yön değiştirmesini ve konsantrasyonlarının artmasını sağlamaktır (Champe ve Harvey 1997, Murray ve ark 1996) .

Diyabetin ilk belirtisi hiperglisemiyle ortaya çıkar, ardından glukozüri, poliüri, polifaji ve polidipsi gerçekleşir (ADA 2005, Bulut ve ark 2001, Sailaja ve ark 2003). İnsülin eksikliğinin yanı sıra insüline karşı gelişen direnç, diabetes mellitus gelişiminde rol oynamakta ve karbohidrat, lipit, protein metabolizmasını da etkilemektedir (Hasselbaink ve ark 2003, Abou-Seif ve Youssef 2004) böylece diabetes mellituslu hastalarda doku ve organlarda biyokimyasal, morfolojik ve fonksiyonel bazı değişiklikler meydana gelmektedir (Yedigün 1995, Aksoy 1988). Bu hastalıkta karbonhidrat, yağ ve protein metabolizmasında anormallikler görülmektedir (Champe and Harvey 1994, Conget 2002). Anormalliklerin temeli organlardaki insülin hareketindeki kusurlar, insülin salgılanmasında yetersizlik veya insüline verilen cevapta azalmadır (ADA 2006). Diyabette pankreasın β hücrelerinin kaybolması sonucu şiddetli insülin azalması ya da bitmesiyle hastalarda açık hiperglisemi görülmektedir. Glikogenolizis ve glikoneogenez yollarıyla glukozun karaciğerde üretimi artar, kas ve yağ dokuları gibi perifer dokular tarafından glukozun alınması azalır. Yağ metabolizması bozulur ve yağ asidi oksidasyonu hiperlipidemi ve ketosize neden olur (Eiselein ve ark 2004).

Diabetes mellitus hastalığının keşfinde iki önemli buluş vardır. Bunlardan ilki; Strasbourg Tıp Fakültesi asistanı Oscar Minkowski'nin 1889 yılında lipaz enzimleri içeren pankreas dokusunun köpeklerde yağ sindirimi için önemli olup olmadığını araştırdığı esnada, köpeklerin pankreasını çıkarıp bunun sonucunda köpeğin normalden fazla idrara çıktığını ve çıkardığı idrarın şekerli olduğunu fark etmiştir (Neugebauer ve ark 2000, Uçkun ve Çalıkoğlu 2003). Böylece pankreasının kan şeker seviyesini düzenleyen bazı maddeler içerdiğini, yokluğundada şekerli diyabetin geliştiği düşünülmüştür (Türkoğlu ve ark 2003). İkinci çalışma ise;

pankreotektom diyabetin 30 yıl sonra, Banting ve arkadaşları, pankreas dokusundan insülin adında aktif bir madde keşfetmiştir. Bu iki buluşun doğrultusunda, şeker hastalığı glukoz metabolizleme bozukluğu olarak kabul edilmiştir (Türkoğlu ve ark 2003).

1.9.1. İnsülinin Hücre Geçirgenliği Üzerine Etkileri: Pankreas'ın β hücrelerinde sentezlenen, depolanan ve belirli uyarılar sonucunda salgılanan insülinin, glukoz, yağ ve protein metabolizması üzerindeki etkilerinden en önemlisi çizgili kaslar, karaciğer, yağ dokusu ve miyokard hücrelerinin ara metabolizması üzerindeki etkileri ve bu hücrelerin plazma membranlarından glukoz transportu, amino asitler ve yağ asitlerinin alınmasını arttırmasıdır (Bayşu 1979).

1.9.2. İnsülinin Lipid Metabolizması Üzerine Etkileri: Normal bir bireyde besinlerle alınan glukozun ~% 30-40'ı lipidlere , ~ %10'u glukojene çevrilir (Murray ve ark 1993). Bunlar insülinin etkisiyle hızlandırılır. Pentoz-fosfat döngüsü aracılığıyla fazla miktarda $NADPH_2$ üretildiği için, yağ asitleri veya lipidlerin sentezi artar. Buna, lipid biyosentezindeki asetil-CoA karboksilaz, enoil hidrataz, açil-CoA taşıyan enzimler gibi çeşitli enzimlerin aktivitelerinin artması da eklenir (Bayşu 1979, Guyton 2005). İnsülinin yokluğunda çeşitli zıt düzenleyici hormonlarca lipolizis artar ve karaciğerde keton cisimleri oluşur. Keton cisimlerinin bir kısmı enerji kaynağı olarak çizgili kas, kalp kası ve öteki dokularca kullanılır. Üretilen keton cisimleri çevre dokuların gereksiniminden fazla bir düzeye ulaşırsa bunların kanda birikimi sonucu ketoasidozis gelişir (Bayşu 1979).

1.9.3. İnsülinin Protein Metabolizması Üzerine Etkileri: İnsülinin, amino asitlerden bir çoğunun hücre içine aktif transportunda rolu vardır (Guyton 2005). İnsülinin, protein biyosentezine doğrudan etkisi m-RNA ve t-RNA sentezlerini uyarıp aminoasitlerden hücresel protein sentezinin arttırılması şeklindedir. Bu etki anaboliktir (Murray ve ark 1993). İnsülin karaciğerde glikoneojenezi sağlayan enzimlerin aktivitesini azaltarak glikoneojenez hızını yavaşlatır (Guyton 2005).

1.9.4. İnsulinin Karbonhidrat Metabolizması Üzerine Etkileri: İnsülin, kan şekerini çok etkin bir biçimde düşürür. Kan glukoz düzeyinin artmasıyla insulin salgısı da artar. Glukoz hücre içine girdikten sonra glikokinaz enzimi aracılığıyla glukoz-6-fosfata dönüşüp hücre içinde kullanılabilir bir duruma gelir. (Zobalı 2000)

1.9.5. İnsülin Salınımı ve Kan Glukoz Düzeyinin Ayarlanması: Kan glukoz düzeyi yükseldiğinde, insülinin salınımı artar. Glukoz düzeyinin doğrudan pankreas tarafından ölçüldüğü, bu doğrultuda β hücrelerinden, insülin salınmasının kontrol edildiği düşünülmektedir çünkü, Langerhans adacıklarına invitro glukoz eklenmesi insülin salınmasını arttırmaktadır. Bunun dışında, sindirim kanalında oluşan gastrin, sekretin, kolesistokinin gibi polipeptidler ve glukagon insülinin salınmasında etkilidir (Bayşu 1979).

İnsülin ve glukagonun kan plazmasındaki miktarı; alınan glukoz miktarı ile büyüme hormonu ve glikokortikoidler gibi kan glukoz düzeyine etkili diğer hormonların kandaki seviyelerine bağlıdır. İnsülin, kan glukoz düzeyini düşüren tek hormondur. Hücre düzeyindeki metabolik olayların kontrolünde, insülin ve glukagon birlikte çalışırlar ve kan glukoz düzeyini ayarlarlar *(*Bayşu 1979*).*

Glukoz hücreler için önemli metabolik bir yakıttır. Vücuda alınan besinlerin birçoğu glukoza parçalanır, kan akışına katılır ve hücre içine alınır. Böylece hücrelerin büyümesi ve gelişmesi için gerekli enerjiyi sağlar. Glukoz hücre içine girdiğinde insülin hormonunun oluşması gerekir. Pankreas tarafından otomatik olarak insülin hormonu salgılanır ve glukozun hücrelerin içine girmesi sağlanır (White ve Kahn 1994).

Fakat diyabetlilerde pankreas çok az ya da hiç insülin üretmez. Böylece kanda glukoz konsantrasyonu artar ve üreyle vücut dışına atılır. Bu durumda kandaki glukoz seviyesi yüksektir ancak hücrelerin en önemli yakıtı olan glukozu kullanmamasına ve de önemli komplikasyonlara neden olur (National Institue of Diabetes 2006).

Amerikan Diyabet Cemiyeti (ADA) tarafından 2003 yılında yeniden belirlenen tanı kriterlerine göre; poliüri, polidipsi, glukozüri, ketonüri ve açıklanamayan ağırlık kaybı gibi semptomlar ile birlikte herhangi bir zamanda ölçülen plazma glukoz düzeyinin ≥ 200 mg/dL bulunması veya 10-12 saat açlık sonu sabah kan glukozunun ≥ 126 mg/dL bulunması DM olarak tanımlanmaktadır (Orhan ve Sencer 2001). Ayrıca 75 gr glukoz ile yapılan oral glukoz tolerans testinde 2.

saatteki glukozun ≥ 200 mg/dL olması ile DM tanısı konmaktadır (Eisenborth ve ark 2003).

Diyabetli bireylerde diyabetin süresine bağlı olarak akut ve kronik bir çok komplikasyon oluşmaktadır. Yaşam kalitesini düşüren ve mortaliteyi artıran tüm bu komplikasyonların temelinde hiperglisemi yatmaktadır (Tuncer 2008). Diabetes mellitus'da karbonhidrat, protein ve yağ metabolizmalarında meydana gelen bozukluklar sonucu doku ve organlarda biyokimyasal, morfolojik ve fonksiyonel çeşitli değişiklikler meydana gelmektedir (Palmer 1993, Yılmaz ve Üstündağ 2002). Diyabetin tüm komplikasyonları uzun sürede ortaya çıkar ve yavaşça ilerler (Altındaş 2001). Hastalığın uzun dönem komplikasyonları arasında eşeysel fonksiyon kaybı ve kardiovasküler semptomlar, ayak ülseri riskli periferal nöropati, muhtemelen görme kayıplı retinopati, böbrek yetmezliğine yol açan nefropati sayılabilir. Diyabetli hastalarda aterosklerotik kardiovasküler, periferal vasküler ve serebravasküler hastalık oranlarında artış olmaktadır. Bu hastalarda ayrıca hipertansiyon, lipoprotein metabolizmasında anormallikler ve peridontal hastalıklar da bulunmaktadır (ADA 2006). Eğer semptomlar tedavi edilmezse daha kötüye gidebilir ve dolaşımın çökmesi sonucu koma ve ölüme yol açabilir (Eiselein ve ark 2004).

Diyabetin 2 tipi tanımlanmıştır. Bunlardan ilki; tip 1 diyabet olarak adlandırılan ve insülin yokluğundan kaynaklanan diabetes mellitus (Insulin Dependent Diabetes Mellitus= IDDM) diğeri; tip 2 diyabet olarak adlandırılan ve insüline dirençten kaynaklanan diabetes mellitus (Non-Insulin Dependent Diabetes Mellitus=nNIDDM).

Diyabetin 1. tipinde kanda insülin bulunmadığından hücreler glukozu alıp kullanamaz ve kanda glukoz birikir. Diyabetli 100 hastadan 10'unda görülen bu tip diyabet genellikle genç yaşlarda ortaya çıkar ve kan şekerinin düzenlenmesi için mutlaka dışarıdan insülin alınmasını gerektirir. Peptid yapısında bir endokrin hormon olarak bilinen insülin hormonu, pankreas tarafından salgılanmaktadır.

Kantitatif, morfometrik yöntemler kullanılarak yapılan çalışmalarda, diyabet tip 1'in, pankreatik β hücrelerinin ölümüyle ilişkili olduğu anlaşılmıştır (Foulis ve Stewart 1984). Tip 1 diyabet, β sitektomisi olarak da tanımlanabilmekte ve deneysel

olarak alloksan veya streptozotosin gibi kimyasal ajanların hayvanlara uygulanması ile oluşturulabilmektedir. β hücrelerindeki otoimmün hasar diyabetin insüline bağlı bu tipinin oluşmasının başlıca sebebidir. Bu otoimmun hasarı oluşturan faktörlerin tamamının anlaşılamamış olmasına karşın, lökosit antijenine sahip hastalarda daha çok rastlandığı bilinmektedir. Diğer sebepler arasında viruslar (Coxsackie B4 gibi) ve kimyasal toksinler yer alır (Stefan ve ark 1979). Daha az sıklıkta rastlanan bir diğer sebep ise adacık hücrelerinin miktarında meydana gelen azalmadır. Buna sebep olarak pankreatit, pankreas kanseri ve pankreotektomi gösterilebilmek mümkündür.

Glukoz, Langerhans adacıklarındaki β hücrelerini insülin salgılamaları yönünde uyarmaktadır. Fakat diyabetik hastaların bir kısmının kanındaki insülin seviyesinin normal olduğu tespit edilmiş ve diyabetin sadece insüline bağlı olmadığı anlaşılmıştır (Rubin ve ark 1992). Bu tip hastalarda görülen diyabet tipi, tip 2 diyabet olarak adlandırılmaktadır.

Tip 2 diyabette ise kanda insülin bulunmasına (pankreastan yeterince insülin salgılanabilmesi) rağmen hücrelerde insülinin bağlanabileceği reseptörler olmadığı için ya da bu reseptörlerdeki yapısal bozukluklar sebebiyle insülin direnci gerçekleşir. Bu yüzden glukoz yine hücre içine alınamaz ve kanda birikir. Diyabetli hastaların %90'ında insülin direnci görülür. Genellikle 45 yaşın üzerindeki yetişkinlerde görülen diyabetin bu tipi genetik orijinli olup, kalıtımsal özellik gösterir.

Tip 2 diyabet görülen hastaların % 60-90'ının obez olduğu bilinmektedir (Ekoé ve ark 1992). Bu tip hastalarda hiperinsülinemiyle birlikte buna bağlı olarak insülin direnci görülmektedir (Ekoé 1988). Diyabetin bu tipinin oluşum sebepleri moleküler düzeyde pek fazla anlaşılamamış olmasına rağmen bu konuda yapılmakta olan çalışmalar 3 ana sebep üzerinden yürütülmektedir;

1. Hücre yüzeyinde meydana gelen anormallikler sebebiyle oluşan insülin direnci (reseptör hasarı),
2. İnsülin salgılanmasında azalma
3. Bu iki sebebin bir arada bulunması (Yki-Järvinen 1995).

Diyabetin ikinci tipinin görüldüğü hastaların büyük çoğunluğunda insülin direnci görülmesine karşın sebebinin insülin sinyal iletimi yolağındaki bozukluk mu

yoksa β hücrelerinden insülin sekresyonu bozukluğu mu olduğuna tam olarak karar verilememiştir (Taylor ve ark 1994, Kahn 1994).

1.10. Diyabette Oksidatif Stres

Oksidatif stres; genellikle prooksidan ve antioksidanlar arasındaki dengenin prooksidanların lehine bozulduğunda ve hemen hemen bütün patolojik durumlar ile ilişkili olan reaksiyonlar olarak tanımlanır (Wolf 1993). Yapılan bir çok çalışmada hiperglisemiden dolayı serbest oksijen radikallerinin arttığı görülmüştür (Baynes 1999). Uzun süre süren hiperglisemi sebebiyle hücre dışındaki proteinlerin nonenzimatik glikasyonuna bağlı olarak serbest radikal üretimi artmaktadır (Son 2007, Baynes 1999). Serbest radikallerin aşırı artışına bağlı olarak da oksidatif stres gelişmektedir (Baynes 1999). Diyabetes mellitusta, protein oksidasyonuyla serbest radikallerin sentezlerinde artma, süperoksit dismutaz temizleyici gücünde azalma ve indirgenmiş glutatyon yokluğu oksidatif stresin kaynakları olarak kabul edilmektedir. Bunların dışında metabolik stres, sorbitol yolunda gerçekleşen aktivite değişiklikleri, inflamatuar aracıların düzeylerindeki değişimler ve hipoksiyle iskemik reperfüzyon sonucu lokalize doku hasarı, oksidatif stresin artmasına sebep olan durumlar içinde gösterilmektedir (Lipinski 2001). DM'da serbest radikallerin; non-enzimatik glikasyon, enerji metabolizması değişikliklerinden kaynaklanan metabolik stres, sorbitol yol aktivitesi, hipoksi ve iskemi reperfüzyona bağlı doku hasarının sonucunda arttığı ve antioksidan savunma duvarının aşıldığı diyabette bu durumun diyabetik komplikasyonlara yol açtığı vurgulanmaktadır (Altan ve ark 2006, Baynes 1991, Baynes 1999). Diyabet oluşturulan ratlarda oksidatif stres belirteçi olarak değerlendirilen 8-OHdGuanin düzeylerinin arttığını gösteren çalışmada (Ihara ve ark 1999) ve serbest radikal oluşumunun hipergliseminin direkt sonucu olduğunu destekleyen çalışmalarla yüksek konsantrasyonda glukoz içeren ortamda inkube edilen endotel ve düz kas hücrelerinde serbest radikal oluşumunun arttığını belirten çalışmalar (Rösen ve ark 1998), hiperglisemi ve diyabetle oksidatif stres arasında yakın ilişki olduğu izlenimini desteklemektedir (Ceriello 1997). Oksidatif stres, radikal üretimi ve radikal yok edici sistem arasında gerçekleşen bir dengesizlikten kaynaklanır. Örneğin; serbest radikal üretiminin yükselmesi, antioksidan aktivitesinin düşmesi hatta her iki durumda da oksidatif stres meydana gelebilir. Diyabetlilerde protein glukasyonu ve glukoz otoksidasyonu sonradan lipid

peroksidasyonunu katalizleyen serbest radikaller üretebilir (Mullarkey ve ark 1990, Baynes 1991).

Diyabet, hem kadınlarda hem de erkeklerde üreme bozukluklarıyla ilişkilendirilmektedir. Sıçan diyabet modellerinde GnRH hipofiz cevabının azaldığı gösterilmektedir. Diyabetik bireylere GnRH uygulandığında LH ve FSH cevaplarında dalgalanmalar olduğu bildirilmektedir. Bu hipotez, STZ ile diyabet oluşturulmuş koyunların lateral ventrikülüne insülin verilmesi sonucunda LH salınma sıklığının artmasıyla desteklenmektedir. Laboratuvar hayvanlarında diyabetteki gibi karbonhidrat dengesindeki yükselme, üreme sisteminin fonksiyonel aktivite bozukluklarının hipotalamus-hipofiz yolu ve gonadlar ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Diyabetiklerde olgunlaşmamış ve apoptoza giden, az hareketli, anormal akrozoma ve morfolojiye sahip sperm yüzdesi oldukça yüksektir. (Baccetti ve ark 2002).

1.10.1. Serbest Radikaller

Canlı bireydeki serbest radikallerin başlıca kaynağı oksijendir. Serbest oksijen radikalleri (SOR) normal hücre metabolizması esnasında ortaya çıkan yan ürünlerdir ve başlıca hedef molekülleri çoklu doymamış yağ asitleri, proteinler, karbonhidratlar ve nükleik asitlerdir (Arıcıoğlu 1994, Kanter 1995).

Serbest radikaller hücresel yapıları bozarak hücre hasarına yol açarlar. Memeli hücre membranları peroksidatif hasara karşı çok duyarlı olan büyük miktarda çoklu doymamış yağ asidi (PUFA) içermektedirler. Herhangi bir sebeple oluşan serbest radikaller, hücre çekirdeğinde öncelikle DNA ile tepkimeye girer. Nükleik asit yapısında olan baz değişimleri veya DNA zincirinin kopması sonucu kromozomal yapıda değişikliklere sebep olmaktadırlar. Bu etkileri sonucu serbest radikallerin pek çok hastalığın oluşmasında zemin oluşturduğu düşünülmektedir (Onat ve ark 2002). Oksijen radikallerinin üretimi normal biyolojik fonksiyonun ayrılmaz parçasıdır. Gerçekleşen tepkimelerin bir kısmında üretilen radikaller tekrar kullanılır, önemli ölçüde birikim olmaz. Fakat radikal üretiminde artış ya da eliminasyonunda azalma olursa toksik etki görülmeye başlar (Kenneth ve ark 1998). Oksidatif stres öncelikli olarak lipid peroksidasyonuna sebebiyet verir. Lipid peroksidasyonu; yağların (özellikle çoklu doymamış yağ asitlerinin) oksidatif oksijen

bağımlı yıkımı olarak tanımlanabilir. Lipid peroksidasyonu sonucu hücre zarının yapısı ve akışkanlığı bozulur, kalsiyum gibi iyonlar hücreye girer. Kalsiyum hücre içinde artar, buna bağlı olarak proteazlar aktive olur ve hücre iskeletinde hasar meydana gelir. Kalsiyum, endonükleazları aktive ederek DNA kırıklarına da neden olur (Baynes ve Thorpe 1999) .

Organizmadaki en önemli reaktif O2 metabolitleri (Fang ve ark 2002 Evans ve ark2003) **;**

1. O_2^{-}. (Süperoksit radikali)
2. H_2O_2 (Hidrojen peroksit)
3. OH**.** (Hidroksil radikali)
4. HOCl (Hipokloröz asit)
5. R. (Alkil radikali)
6. ROO. (Peroksil radikali)
7. RCOO. (Organik peroksit radikali)
8. HO_2. (Perhidroksil radikali)
9. RO. (Alkoksil radikali).

Serbest radikallerin hücredeki başlıca zararlı etkileri;

- DNA'nın tahrip olması
- Nukleotid yapılı koenzimlerin yıkılımı
- Enzimlerin inaktivasyonu
- Proteinlerin zarar görmesi
- Membran ve serum lipitlerinde peroksidasyon
- Hücre yüzeyindeki reseptörlerde değişiklik
- Na-K-ATP_{az} , Ca- ATP_{az} gibi hücre iyon transport proteinlerinin tahrip olması
- Bağ doku harabiyeti
- Ekstraselüler etki

1.10.2. Antioksidan Mekanizmalar

Antioksidanlar, oksidatif hasarı önler, sınırlar ya da kısmen tamir ederler (Kenneth ve ark 1998). Vücut, oksidatif stres sonucunda oluşabilecek olan hasarları engellemek adına antioksidan vitaminler, glutatyon (GSH), antioksidan enzimler ve sülhidrillerden oluşan bir antioksidan savunma sistemi ile donatılmıştır. Genel olarak

antioksidanlar serbest radikalleri ve tek oksijeni direkt olarak yakalar ve etkisiz hale getirir (Gutteridge 1995) .

Antioksidanlar etkilerini başlıca şu yollarla gösterirler;

1. Serbest radikal oluşumunun önlenmesi veya ortamdan uzaklaştırılması

2. Katalitik metal iyonlarının uzaklaştırılması

3. O_2^-, H_2O_2 (hidrojen peroksit) gibi bazı SOR'lerinin ortamdan uzaklaştırılması

4. Zincir reaksiyonunun kırılması

5. Tek oksijen üzerine çöpçü veya söndürücü etki gösterilmesi antioksidanları etki mekanizmalarına veya organizmadaki lokalizasyonlarına göre sınıflandırmak mümkündür (Gutteridge 1995) .

Fizyolojik koşullarda hücreler oluşan serbest radikal ürünleri ve peroksitler gibi moleküllerin neden olabileceği oksidatif hasara karşı antioksidan savunma sistemleri tarafından korunur. Bu sistemler şu şekilde sınıflandırılabilir:

A. Enzimatik Antioksidanlar: Süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), selenyum bağımlı glutatyon peroksidaz (GPx), glutatyon-S-transferaz (GST), glutatyon redüktaz (GR).

B. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar: C vitamini, E vitamini, A vitamini, flavinoidler, melatonin, ürik asit, albümin, haptoglobulin, sistein, seruloplazmin, transferin, laktoferrin, ferritin, oksipurinol, ubiquinon (koenzim Q10), bilirubin, mannitol, lipoik asit ve hemopeksin (Halliwell ve Gutteridge 2000).

Genel olarak enzimatik antioksidanlar hücre içinde, enzimatik olmayan antioksidanlar ise hücre dışında daha etkilidir (Cutler ve ark 2005).

Diyabette serbest radikallerin fazlaca yükselmesi antioksidan savunma sisteminin azalmasına neden olur bu durumda sadece hücre organellerinin ve enzimlerin hasarına değil, lipit peroksidasyonununda artmasına ve insülin reseptörlerinin insüline karşı duyarlılıklarının azalmasına neden olur (Maritim ve ark 2003). Serbest radikaller sebebiyle artış gösteren lipit peroksidasyonu Langerhans ada hücrelerindeki glukozun oksidasyonunu arttırır. İnsülin salınımı ve insülin mRNA' sının transkripsiyon faktörüne bağlanmasını inhibe eder (Evans ve ark 2003).

Antioksidanlar 4 farklı mekanizmayla oksidanları etkisizleştirirler.

1. Scavenging (temizleme) etkisi: Oksidanları zayıf bir moleküle çevirme şeklinde olan bu etki enzimler tarafından yapılır.

2. Quencher (baskılama) etkisi: Oksidanlara bir hidrojen aktararak etkisiz hale getirme şeklindeki bu etki vitaminler ve flavonoidler tarafından yapılır.

3. Onarma etkisi: Oksidatif hasar görmüş biyomoleküller onarılır.

4. Zincir koparma etkisi: Oksidanları bağlayarak fonksiyonlarını engelleyen ağır metaller şeklindeki bu etki hemoglobin, seruloplazmin ve E vitamini tarafından yapılır (Onat ve ark 2002, Taysi ve ark 2002, Cherubini ve ark 2005).

1.11. Deneysel Diyabet

Diyabet gibi kompleks bir rahatsızlığın meydana getirdiği fizyolojik ve patolojik değişikliklerin anlaşılabilmesi ve potansiyel tedavi mekanizmalarının geliştirilebilmesi amacıyla deneysel hayvan modelleri kullanılmaktadır. Diyabetin her bir tipine ait farklı hayvan modelleri geliştirilmiştir. Bu deneysel diyabetik hayvan modelleri sayesinde elektrofizyolojik, biyokimyasal, anatomik ve histolojik değişikler in vivo ya da in vitro olarak rahatlıkla araştırılabilmektedir (Bonnevie-Nielsen ve ark 1981).

Tip 2 diyabetik hayvan modelleri, genetik olarak mutasyonlarla ya da genetik mühendisliği teknikleri ile geliştirilebileceği gibi kimyasal olarak da oluşturulabilmektedir. Sıklıkla kullanılan yöntem streptozotosin (STZ) enjeksiyonudur. İnsanlardaki tip 2 diyabetin tüm fizyolojik ve patolojik özelliklerini yansıtan deneysel tip 2 diyabet oluşturma yöntemi 2 günlük neonatal sıçanlara tek seferlik 90 mg/kg dozunda i.v. STZ enjeksiyonudur (Bonnevie-Nielsen ve ark 1981). 6-15 haftalık sıçanlarda glukoz kullanım oranında bozulma ve β hücresi fonksiyonlarında ciddi azalma görülür. Ayrıca Tip 2 diyabet modeli pankreasın bir kısmının cerrahi olarak çıkarılmasıyla da oluşturulabilir (Stefan 1978).

Genetik mühendisliği yöntemleriyle elde edilmiş olan Tip 1 diyabet hayvan modelleri genetik modifiye NOD fareleri ve BB sıçanlarıdır. Bu hayvan modellerinde diyabet kendiliğinden gelişir ve yaşamlarını sürdürebilmek için dışarıdan insülin alınmasına ihtiyaç duyarlar. Tip 1 diyabetin viral yolla da oluşturulabilmesi, insanlarda çevresel faktörler kaynaklı diyabet oluşumunun daha iyi anlaşılmasına imkan tanımıştır (Stefan 1978).

Tip 1 diyabet modeli oluşturulması, kimyasal yolla en çok kullanılan yöntemdir. Deneysel yolla diyabet oluşturmak amacıyla kullanılan kimyasallar 3 esas kategoride toplanabilir;

1- Spesifik olarak β hücre hasarı oluşturanlar,

2- İnsülin üretiminin ve salgılanmasının geçici olarak inhibe edilmesine sebep olanlar,

3- Hedef organlardaki insülinin etkinliğini azaltanlar. İlk kategorideki kimyasallar sıklıkla tercih edilmektedir. Çünkü, bu ajanlarla uzun süreli çalışmalarda kullanılmak üzere göreceli olarak kalıcı diyabet oluşturulabilmektedir. Deney hayvanlarında kalıcı diyabet oluşturabildiği ilk rapor edilen bu kategorideki ajan siklik üre molekülü benzeri Alloxan'dır (Dunn1943). Aynı mekanizma ile diyabet oluşturan Streptozotocin (STZ) zamanla bazı özelliklerinden dolayı alloxan'ın yerini almıştır (Rakieten ve ark 1963).

Bu özellikleri;

1- β hücrelerine karşı daha seçici olması (Junod ve ark 1969),

2- STZ verilerek diyabet oluşturulan hayvanlardaki mortalitenin daha düşük olması (Letal dozu uygulama dozunun 5 katından fazladır) (Hoftiezer ve Carpenter 1973),

3- STZ'nin vücuttaki yarılanma ömrünün uzun olması (15 dakika) (Agarwal 1980).

STZ [2-deoksi-2- (3-metil-3-nitrozüre) 1-d-glukopiranoz], esasında bir antibiyotik türevidir. Sitotoksik etkisini yüksek reaktif özellikteki nitrozüre yan zinciri sayesinde gerçekleştirir. Pankreatik β hücresi membran reseptörlerine bağlanarak yapısal hasar oluşturur (Johansson ve Tjalve 1978). STZ aynı zamanda intraselüler seviyede de hasar meydana getirir (Uchigata ve ark 1982) .

1- **Metilasyon:** Hücre içi CH_3^+ iyon miktarının artmasına neden olur. Bu iyonlarda DNA'nın farklı bölgelerindeki bazları alkilleyerek kırıklar meydana getirir (Uchigata ve ark 1982). Bu durum DNA tamirinde görevli polisentetaz enzimlerinin çalışmasına sebep olur. Fakat bu enzim NAD^+'a ihtiyaç duyar ve hücrede bulunan NAD^+'lar buraya yoğunlaşır. NAD^+ sentezi yaklaşık 20 dakika süreceğinden NAD^+

bağımlı enerji metabolizması kesintiye uğrar ve bu sebeple hücre ölür (Wilson ve ark 1984).

2- **Serbest radikal oluşumu:** STZ'nin in vivo ve in vitro uygulanması ile pankreatik hücrelerde hidrojen peroksit (H_2O_2) oluştuğu görülmüştür (Gandy ve ark 1982, Papaccio ve ark 1986). Bu durumun yarattığı oksidatif stresin hücreyi ölüme götürdüğü düşünülmektedir (Robbins ve ark 1980)

3- **Nitrikoksit (NO) üretimi:** STZ uygulanması sonucunda β hücrelerinde NO seviyesinin arttığı ve hücre ölümüne sebep olduğu gözlenmiş, bunun STZ'nin diyabetojenik etkilerinden biri olabileceği öne sürülmüştür (Kwon ve ark 1994).

STZ ile oluşturulan diyabet sonucu fertilite, proliferasyon yeteneği (Altay ve ark 2003, Ballester ve ark 2004) ve libido (Ballester ve ark 2004), testiküler sperm sayısı, hareketliliği ve testiküler ağırlık (Altay ve ark 2003, Baccetti ve ark 2002) belirgin olarak azalır. STZ uygulanmasıyla testiste germ hücre sayısında azalma, Sertoli ve Leydig hücre vakoulizasyonu (Altay ve ark 2003), Leydig hücrelerinin sayısında ve fonksiyonunda azalma gözlenir. Aynı zamanda STZ uygulanması sonucu, seminifer tübüllerdeki FSH, insülin, insülin benzeri büyüme faktörü-1 (IGF-I) reseptörlerinin anlatımı da etkilenmektedir. Serum LH, FSH ve testosteron düzeyleri belirgin olarak azalmaktadır. İnsüline bağlı diyabette; insüline duyarsız hale gelen hücrelerde insüline bağlı olarak gelişen FSH azalması sonucu Leydig hücrelerinin fonksiyon ve testosteron üretiminde ve devamında LH düzeylerinde azalma gözlenir. Ayrıca, sperm atımı ve fertilitesi de FSH'a bağlı olarak azalır (Ballester ve ark 2004).

Yapılan çalışmalarda deneysel olarak diyabet oluşturulan sıçanlarda ve diyabetik hastalarda serbest oksijen radikallerinin ve lipid peroksidasyonunun önemli derecede arttığı ve oksidatif stresin diyabet etiyolojisinde ve ilerlemesinde rolü olduğu bildirilmiştir. Ayrıca uzamış oksidatif stresin ve antioksidan kapasitede görülen değişikliklerin diyabetin kronik komplikasyonlarının ortaya çıkığı ile de ilişkili olabileceği araştırmacılar tarafından vurgulanmaktadır (Altan ve ark 2006, Coşkun ve ark 2005 , Merzouk ve ark 2000, Rajasekaran ve ark 20005, Shrilatha ve Muralidhara 2007).

1.12. Alfa Lipoik Asit

1980'lerin sonlarında keşfedilen Alfa Lipoik Asit (ALA= LA), başlangıçta vitamin olarak nitelendi ve ıspanak, karaciğer, bira mayası gibi besinlerde doğal olarak bulunan alfa lipoik asidin yararları son yıllarda birçok araştırmanın merkezi konusu hale gelmiştir (Biewenga ve ark 1994, Neal ve ark 1999, Navari-Izzo ve ark 2002) ALA; bitkiler, hayvanlar ve insanlar tarafından sentezlenebilen doğal bir bileşiktir. Oksitlenmiş ya da indirgenmiş halde iki sülfür molekülü içermektedir. Bu özellik ALA'nın, bir çok önemli enzimin kofaktörü olarak görev yapmasını sağlamaktadır. Oksidatif glukoz metabolizmasında ve hücresel enerji üretiminde rolleri olan bazı mitokondriyal enzimlerinin doğal kofaktörü ve güçlü bir antioksidanı olan ALA sekiz karbonlu bir yağ asididir (Song 2005).

Bir bileşiğin potansiyel antioksidan olabilmesi için kimyasal ve biyokimyasal bir takım özelliklere sahip olması gerekir. Bunlar; serbest radikali baskılama spesifitesi, metal şelasyon aktivitesi, diğer antioksidanlarla etkileşimi, absorbsiyonu, biyo yararlanımı, hücre ve ekstrasellüler sıvıdaki konsantrasyonu gibi özelliklerdir.

Lipoik asit diyetten kolayca emilir. Birçok dokuda hızlı bir şekilde DHLA'ya çevrilir. Lipid ve sıvı ortamda her ikisi de etkili olarak serbest radikalleri baskılarlar. ALA; hidroksil radikalini, hipoklorik asidi, singel oksidi temizler ancak hidrojen peroksidi, süperoksid radikalini ve peroksid radikalini temizlemez (Kagan ve ark 1992, Scott ve ark 1994).

Gıdalarla alınan ALA'nın büyük bir kısmı lipoamid içeren enzimlerden elde edilir ve lizin aminoasidine bağlı (lipolizin) halde bulunur. Lipolizin açısından zengin hayvan dokuları böbrek, kalp ve karaciğerdir. Bitkilerde ise hayvansal kaynaklardan elde edilebilecek kadar çok değildir. Lipolizin açısından zengin bitkiler; ıspanak, brokoli ve domatestir. ALA bakteriden insana kadar olan tüm organizmalarda sentezlenir. İnsanlarda sentez yeri karaciger ve diğer dokulardır (Liu ve ark 2002).

Oral yolla alımın ardından hızla absorbe edilir ve vücudun pek çok dokusunda, indirgenmiş formu olan dihidrolipoik asit'e (DHLA) kolayca çevrilebilir. Oral yolla verilebildiği gibi ekstraselüler olarak da verilebilen lipoik asit, daha

sonrasında hem ALA şeklinde hem de DHLA şeklindeki etkileri intra ve ekstraselüler olarak bulunabilmektedir.

Alfa lipoik asitin hem okside formu hem de indirgenmiş formu antioksidan aktivite göstermektedir. DHLA, dihidroaskorbik asidi yeniden askorbik aside çevirebilir; direkt olarak C vitamininin, indirek olarak ise E vitamininin yeniden oluşumunu sağlayabilir.

Araştırmacılar, ALA'nın hücreler arası glutatyon (GSH) ve koenzim Q-10 seviyelerini arttırdığını bulmuşlardır. ALA'nın arsenik zehirlenmelerinde de kullanılabileceği hayvan çalışmalarıyla gösterilmiştir. Hem in-vitro deneylerde hem de hayvan çalışmalarında kadmiyuma bağlı hepatotoksisiteyi azalttığı bulunmuştur.

Yaşlanma mitokondriyal fonksiyonlarda bir azalma ile oluşan kaçınılmaz bir biyolojik olaydır. Mitokondriyal bozulmanın etiyolojisi öncelikle aerobik metabolizma sonucu artan oksidan maddelere ve endojen antioksidan savunma mekanizmalarında azalma ile ilişkilendirilmiştir. Artan oksidan madde, mitokondriyal DNA'ya ve proteine hasar vermektedir bunun sonucunda ise lipit fonksiyon bozukluğuna yol açmaktadır (Teiktoic acid, Baxter Oncology GmbH, Halle/ Westph, Almanya).

Lipoik asit/DHLA redoks çifti iyi bir antioksidan olarak kabul edilir. Lipoik asidin, iskemi-reperfüzyon hasarı, diyabet, katarakt oluşumu, nörodejenerasyon, yaşlanma ve radyasyon hasarı gibi birçok durumda yararlı olduğu gösterilmiştir (Bustamante ve ark 1998, Garcia-Estrada ve ark 2003, Parcell 2002).

Oksidatif stresi azaltan teröpatik ajanlar mitokondriyal fonksiyonu düzeltme, hastalıkla mücadele etme, yaşam kalitesinin düzelmesi ve yaşlanma sürecini geciktirme potansiyeline sahiptir. Sıçanlarda yapılan araştırmalarda ALA endonöral kan akımını zenginleştiren, GSH'ın fizyolojik antioksidan düzeyini artıran ve diyabetik sinirde serbest oksijen radikallerini (SOR) azaltan biyokimyasal işlemler ile etkileşir. Hayvan deneylerinde (köpek ve sıçanlarda), radyoaktif işaretleme kullanıldığında özellikle metabolit formları majör olarak renal eliminasyonun %80-90 olduğu gösterildi (Baxter Oncology GmbH.) ALA ve DHLA tüm antioksidan kriterlerini yerine getirdiğinden ideal antioksidanlar olarak kabul edilebilir (Packer

ve ark 1995). ALA suda ve lipit tabakada çözünülebilirliği nedeniyle lipit-su ara yüzeyinde okside antioksidan redüksiyon işlevlerini görür. Vitamin E'nin yeniden oluşum siklusunda vitamin C ve GSH ile etkileşerek membranları korur. Bilinen bir yan etkisi yoktur (Gültekin 2009).

ALA ve DHLA doğal olarak fizyolojik sistemlerde bulunduklarından ideal terapotik antioksidan olduğu düşünülebilir (Liang ve ark 2000).

Endojen ALA genellikle bazı multienzim komplekslerinde (piruvat dehidrojenaz kompleksi, α- ketoglutarat dehidrojenaz kompleksi) proteine bağlı kısımda bulunur (Alvarez ve Boveriz 1995). ALA tedavisinin invivo olarak çeşitli fizyolojik ve patolojik koşullar altında oksidatif stresi azalttığına ve diğer antioksidanların seviyesini iyileştirdiğine dair kanıtlar ortaya konmuştur (Moini ve ark 2002). İki hafta süresince ALA'nın diyete eklenmesinin artmış yaşa bağlı oksidan üretimini belirgin şekilde azalttığı, miyokardiyal askorbik asit seviyesinde azalmayı düzelttiği ve yaşlı ratlarda kalp dokusunda oksidatif DNA hasarını azalttığı gösterilmiştir (Suh ve ark 2001). Benzer şekilde intraperitoneal yolla verilen ALA'nın (100 mg/kg/gün; 2 hafta) serebral lipid peroksidasyonunu azalttığı, yaşlı rat beyninde vitamin E ve GSH seviyesinin azalmasını durdurduğu görülmüştür (Arivazhagan ve Panneerselvam 2000). GSH, askorbik asit ve E vitaminine ilave olarak ALA verilmesi (100 mg/kg/gün; 2 hafta) sıçan karaciğer ve böbreklerinden izole edilen mitokondrilerde izositrat dehidrojenaz, α- ketogluterat dehidrojenaz ve süksinat dehidrojenaz gibi enzimlerin azalan aktivitesini arttırdığı tespit edildi (Arivazhagan ve ark 2001). İnsanlarda ALA genelde proteine bağlı olarak bulunur (Hermann ve ark 1996). Ancak terapötik etki gösteren serbest lipoik asittir. Esas olarak karaciğerde metabolize olur (Lombardo ve Chicco 2006).

DHLA, güçlü antioksidan etkinliği sayesinde, pankreastaki Langerhans adacık hücrelerini reaktif oksijen hasarına karşı korumaktadır *(*Heller ve ark 1997*)* Estrada ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada ALA'nın, kas hücrelerindeki glukoz kullanımını insüline benzer bir şekilde arttırdığını göstermişlerdir (Estrada ve ark 1996). Jacob ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada Tip 2 diyabet hastalarına 1000 mg i.v. ALA verilmesi ile, insülinle stimüle edilmiş glukoz kullanımında % 50 artış olduğu görülmüştür (Jacob ve ark 1995). Bir diğer çalışmada ise açlık kan şekeri veya insülin seviyelerinde bir değişim olmadan glukoz kullanımında ortalama % 30

artış bulunmuştur (Jacob ve ark 1995). Nöropati gelişiminde lipid peroksidasyonunun önemli bir rol oynadığına inanılmaktadır. Nickander ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada, lipoik asitin sinir dokusundaki lipid peroksidasyonunu azalttığını bulmuşlardır (Nickander ve ark 1996). Ziegler ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada, ALA'nın nöropati semptomlarını anlamlı olarak azalttığını göstermiştir (Ziegler ve ark 2006). Diyabetin komplikasyonlarından korunmada ALA'nın etkin olduğu diğer mekanizmalar ise, protein glikolizasyonundan koruma ve aldoz redüktaz enziminin baskılanması olarak sıralanabilir (Ou ve ark 1996, Schleicher ve ark 1997). Aldoz redüktaz enziminin baskılanması, akabinde glukoz ve galaktozun sorbitole dönüşümünü de baskılamaktadır (Ruhnau ve ark 1999).

Serbest radikaller yaşlanma, hastalıklar ve normal metabolizma sonucunda üretilen yüksek reaktif moleküler ürünlerdir ve vücuda hasar verici maddelerdir. Hücresel metabolizmada belirgin rolleri olduğu için serbest radikal üretiminin ana kaynağı mitokondrilerdir. Serbest radikallerin aşırı üretimi veya yetersiz nötralizasyonu proteinler, lipidler ve DNA' da hasara yol açar. Serbest radikal üretiminin kaynağına yakınlığından dolayı mitokondri içeriği serbest radikal hasarının birincil hedefi haline gelir. Mitokondriyal DNA'daki bu kümülatif ve kaçınılmaz ataklar mutasyonların oluş sıklığını arttırır, bozuk fonksiyonlu proteinlerin üretimiyle sonuçlanır. Fizyolojik enerji ihtiyacını karşılamak mitokondrinin temel görevi olduğundan bu fonksiyonda aksamalar olursa patolojik olaylar gerçekleşir.

SOR'un ve lipid peroksitlerin birçok hastalığın oluşumunda rol oynadıkları kabul edilmektedir. Diabetes mellitus, ateroskleroz, romatoid artrit, kanser, ülseratif kolit ve karaciğer sirozu gibi hastalıkların patogenezinden sorumlu tutulmaktadır. SOR'un membranda bol miktarda bulunan lipidleri etkilemesi ile lipid peroksidasyonu başlar ve tüm radikalik reaksiyonlar gibi bir zincir reaksiyonudur. Zincir kırıcı bir etki veya iki lipid peroksidinin birbiriyle etkileşmesi olmadıkça giderek artan bir şekilde devam etmektedir. (Betteridge 2000, Halliwell ve Chirico1993,). Sisplatin ile ototoksisite geliştirilmiş ratlarda SOR ve lipid peroksidasyonunun arttığı, kohlear GSH düzeylerini azalttığı tespit edilmiştir. İntraperitoneal olarak uygulanan ALA'nın sisplatinin aktive ettiği lipid

peroksidasyonununa bağlı GSH'ın tüketilmesini azalttığı gösterilmiştir (Rybak ve ark 1999) Biyolojik ortamların basamakları en iyi bilinen ve en çok çalışılan radikal reaksiyon zinciri lipid peroksidasyonudur. SOR, organik ortamlardaki biyomoleküllerin tümünü etkileseler de, asıl hedefleri membran lipidleri olmak üzere diğer lipidler, proteinler ve DNA'dır (Dündar ve Aslan 2000).

DHLA bütün antioksidanları redükte edebilir ve lipoamid redüktaz, glutatyon redüktaz ve tiyoredoksin redüktaz enzimlerini rejenere edebilir. Böylece ALA ve DHLA antioksidan ağda merkezi bir görev alır. ALA suda çözünen ve membranda çözünen özelliklerin her ikisine de sahip olduğundan lipid/su fazları arasındaki okside antioksidanların indirgenmesine olanak sağlar. Üstelik lipoik asitle tedavi invivo ve invitro GSH düzeylerini yükseltir (Gültekin 2009).

Erkek üreme sisteminin bir parçası olan testisler; puberteyle birlikte spermatozoonların üretimi ve beslenmesi ile başlıca erkek seks hormonu olan testosteronun sentezinden sorumlu olan bir çift organdır. Testosteron düzeyinin düşmesi diyabette oluşan testiküler atrofiyi açıklamaktadır. Streptozotosin (STZ) ile oluşturulan deneysel diyabette testislerde tübüler atrofi izlenmiştir. İnsülinin testosteron salınımını hormonal olarak düzenlediği, kan insülin düzeyinin azalmasının testosteron düzeyinin düşmesine neden olduğu, insanlarda ve deney hayvanlarında gösterilmiştir. İnsülinin testosterona etkisi, lutein yapıcı hormon (LH) ve folikül uyarıcı hormon (FSH) salgılanmasını baskılayarak olmaktadır. Testosteron, Leydig hücreleri tarafından sentezlenerek salgılanır. LH, Leydig hücrelerinin reseptörlerine bağlanır ve bu salgılanmayı uyarır. Testosteron hem sertoli hücrelerinin fonksiyonlarının gerçekleşebilmesi için hem de spermiyogenezin oluşabilmesi için gereklidir. Sertoli hücrelerinin FSH stimulasyonu ile salgılanan androjen bağlayıcı protein, seminifer tübüllerde testosteronun tutulmasını sağlar.

Alfa Lipoik Asit (ALA) yağda ve suda çözülebilen güçlü bir antioksidandır. Buna ilaveten, vücuttaki okside maddeleri antioksidana çevirerek değerini düşürür. Vücutta karbonhidratların enerjiye dönüştürülmesi sürecinde rol oynayan ALA şeker hastalarında kan şekerini düzenlemeye yardımcı olarak şekerin karaciğer, göz ve damarlara verebileceği harabiyeti azaltır. Kuvvetli bir antioksidan olarak kabul edilen ALA sıçan pankreatik adacık hücrelerini parçalanmaktan korur. ALA diyabeti

engelleme potansiyeline sahip (en azından hayvanlarda) glukoz kontrolü sağlayan ve nöropati denen bozukluğu düzenler.

ALA hücrelerin glukoz kullanımını arttırdığı için diyabet tedavisinde de kullanılmaktadır. ALA'nın diyabette testiste oluşan histolojik harabiyete iyileştirici etkisinin olup olmadığı ve araştırma sonuçlarımızın toplum sağlığı açısından önemli olabileceği literatüre katkı sağlayacağı ve bu konudaki araştırmalara ve farklı yorumlara ışık tutacağı düşüncesindeyiz. Diyabetin, gonadal fonksiyonları etkileyerek, düşük testosteron düzeyleri, testiküler disfonksiyon ve yetersiz spermatogenez oluşturduğu insanlarda ve deney hayvanlarında gösterilmiştir. Diyabete bağlı olarak testislerde, tunika albugineada, seminifer tubüllerde, interstisyel bağ dokusu içinde ve Leydig hücrelerinde histolojik değişiklikler incelenmektedir. Bu çalışmada deneysel Tip I diyabet oluşturulmuş sıçanlara alfa lipoik asit (ALA) verilerek, testislerdeki histolojik değişmelerde iyileşme olup olmadığının gözlemlenmesi amaçlanmıştır.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma Selçuk Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezi'nde Deney Hayvanları Etik Kurulu'nun 31.12.2008 tarih ve 2008/60 Sayılı kararı ile etik yönden uygun bulunarak yapıldı. Çalışma bütçesinin tamamı Selçuk Üniversitesi Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'nün 09202043 proje no'lu kararı gereğince karşılandı.

Çalışmaya Sprague-Dawley türü 250-300 gr ağırlığında erişkin 48 adet erkek sıçan alındı. Deneyler süresince sıçanlar saatte 15 kez hava değişimi ± (20) ˚C, % 30-40 nisbi nem, düzenli olarak 12 saat gece 12 saat gündüz periyodunda, su ve yemde kısıtlama olmaksızın, her bir kafeste en fazla 5 adet sıçan olmak koşuluyla barındırıldı. Deney hayvanlarına yapılmış olan tüm deneysel ve cerrahi işlemler Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Etik Kurulu'nun belirlemiş olduğu kurallara uyularak yapıldı.

Kimyasal yolla deneysel diyabet oluşturabilmek amacıyla Streptozotosin (STZ, Sigma Aldrich Chemicals, USA) kullanıldı. Diyabet ve Diyabet + Alfa Lipoik Asit gruplarını oluşturacak olan 24 adet sıçana serum fizyolojik içerisinde eritilen STZ 50 mg/kg tek doz intraperitoneal (i.p.) enjekte edildi. Enjeksiyonu takip eden 7. gün kan şekeri düzeyleri bir glukoz ölçüm kiti (Gluco DR Super Sensor Blood Glucose Test Meter) kullanılarak ölçüldü, ölçüm değerleri 270 mg/dL'den fazla olan sıçanlar diyabet olarak değerlendirilip ayrıldı. Bu 7 günün ardından 5 gr Alfa Lipoik Asit distile su içerisinde karıştırıldı. Çözünmesi için içerisine pellet NaOH eklenmiştir. İntraperitoneal uygulama için pH'ı 7,2-7,3 olacak şekilde HCl eklenerek pH dengesi ayarlandı.

Deney hayvanları her grupta 12'şer adet olmak üzere 4 gruba ayrıldı.

Grup 1 (kontrol grubu): Bu gruptaki sıçanlara 5 hafta boyunca 100 mg/kg/gün serum fizyolojik intraperitoneal olarak uygulandı.

Grup 2 (diyabet grubu): Bu gruptaki sıçanlara 5 hafta boyunca 100 mg/kg/gün serum fizyolojik intraperitoneal olarak uygulandı.

Grup 3 (ALA grubu): Bu gruptaki sıçanlara 5 hafta boyunca 100 mg/kg/gün Alfa Lipoik Asit intraperitoneal olarak uygulandı.

Grup 4 (ALA + Diyabet grubu): Bu gruptaki sıçanlara 5 hafta boyunca 100 mg/kg/gün Alfa Lipoik Asit intraperitoneal olarak uygulandı.

Deney bitiminde %10'luk ketamin 20 mg/kg ve %2'lik ksilazin 3 mg/kg intraperitoneal olarak uygulandı. Anestezi altında testis dokusu çıkarıldı.

Tablo 2.1. Deney grupları

Deney grupları	Sıçan sayısı	Tedavi	Doz	Süre
Grup I	12	Serum fizyolojik	100 mg/kg/gün	5 hafta
Grup II	12	Serum fizyolojik	100 mg/kg/gün	5 hafta
Grup III	12	Alfa lipoik asit	100 mg/kg/gün	5 hafta
Grup IV	12	Alfa lipoik asit	100 mg/kg/gün	5 hafta

Alınan dokular % 10 formaldehit içerisinde tesbit edildı. Daha sonra uygun doku örnekleri %10 formaldehit içerisinden alınarak akan çeşme suyu altında yıkandı. Yıkanan dokular yükselen alkol serilerinden (%70, %90, %96, %100) geçirilerek dehidrate edildi ve ksilen ile şeffaflandırıldı. Şeffaflandırılan testis dokuları prafinde bekletildikten sonra oda ısısında parafin içine gömülerek bloklandı. Parafin bloklardan HM 325 MİKROM marka mikrotom yardımıyla 4-5 μm kalınlığında kesitler elde edildi ve lamel üzerine alındı. Alınan kesitler Hematoksilen-Eozin (H&E) boyası ile boyandı. Entellan ile kapatılarak üzerine lamel monte edildi. Hazırlanan preparatlardan 10'ar adet seminifer tübül gelişi güzel seçilerek Olympus CX31 marka mikroskopta X400'lük büyütmede germinal epitelin düzenli olup olmadığına ve spermatogenetik faaliyetin hangi aşamasında olduğuna bakıldı. Bunun için JOHNSON SKOR'u kullanıldı.

Tablo 2.2. Johnson Skorlaması

Skor 1	Seminifer tübüllerde hücre yok.
Skor 2	Germ hücreleri yok, yalnızca Sertoli hücreleri görülüyor.
Skor 3	Var olan tek germ hücreleri spermatogonyumlardır.
Skor 4	Spermatozoa veya spermatid yok, 5'ten az spermatosit var.
Skor 5	Spermatozoa veya spermatid yok; ancak spermatositler var.
Skor 6	Spermatozoa yok, 10'dan az spermatid mevcut.
Skor 7	Bol spermatid mevcut; ancak spermatozoa yok.
Skor 8	Germinal epitel çok sıralı; ancak lümande 10'dan az sayıda spermatozoa var.
Skor 9	Germinal epitelde çok sıralı; ancak disorganize görünüm, lümende obliterasyona yol açan hücre dökülmesi var.
Skor 10	Çok sıralı, bol spermatozoa ve santralde açık lümen içeren tübüller var.

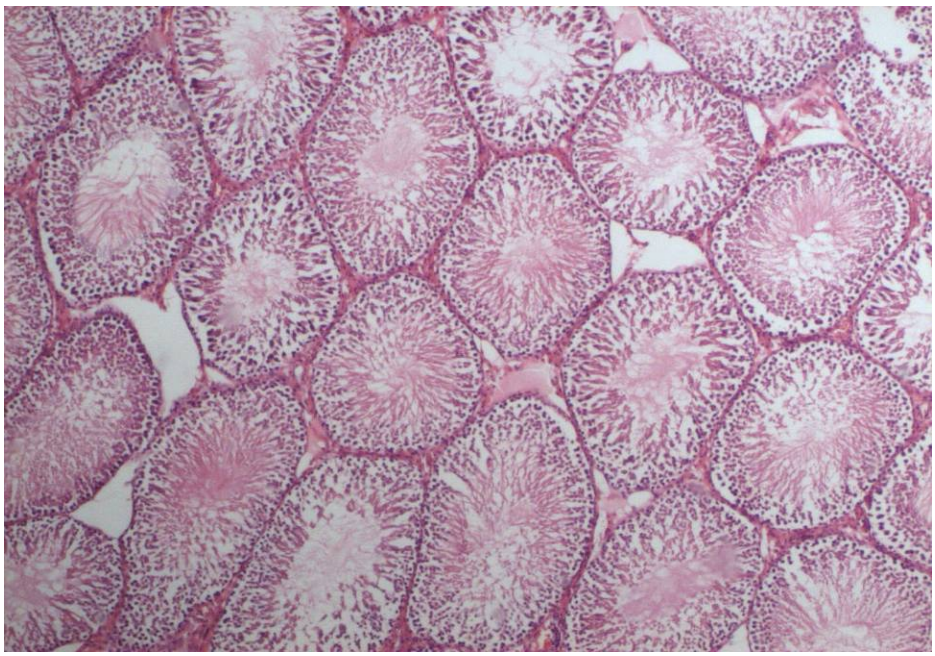
Her grupta rastgele 10 seminifer tübül için ayrı bir skor verildi ve bunların hesaplanan ortalamaları ile grupların ortalama Johnson skorları belirlendi. Deney grupları için hesaplanan ortalamalar arasındaki farklılık tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile karşılaştırıldı, farklılığın hangi gruplar arasında olduğu Tukey çoklu karşılaştırma testi uygulanarak tespit edildi. Hesaplanan p değeri 0,05'ten küçük olan gruplar arasındaki farklılık, istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Veriler ortalama ± standart hata olarak verildi.

3. BULGULAR

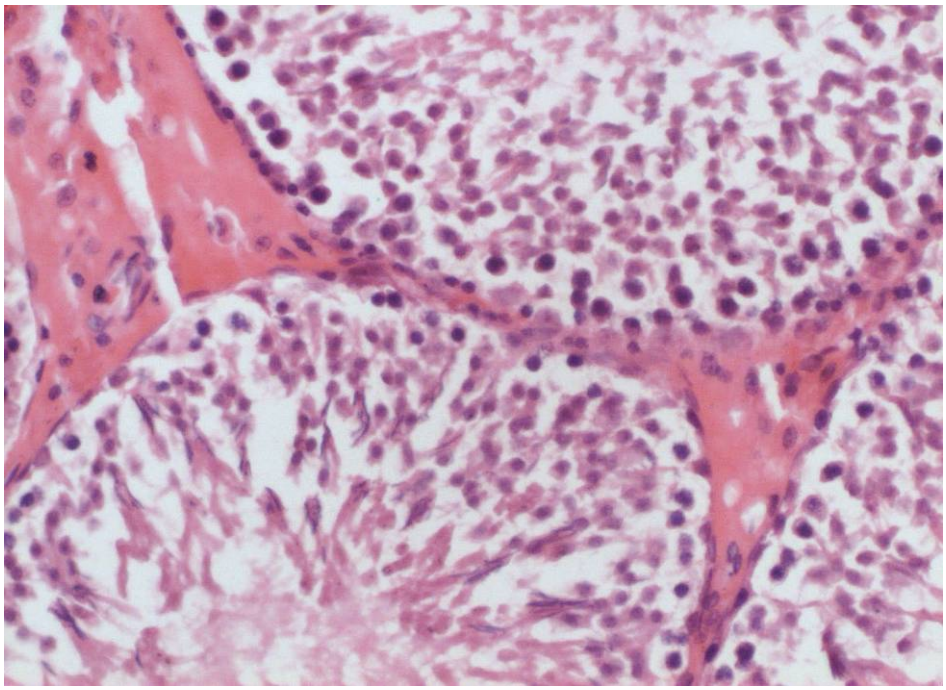
Her 4 gruptaki testis dokuları histopatolojik olarak incelenirken; seminifer tübüllerin genel yapısı, tübül içerisindeki spermatogenetik seri hücrelerinin varlığı ve interstisyel alanın görünümü, göz önünde bulundurulan kriterlerdi. Bunları değerlendirirken Johnson skorlama yöntemi kullanıldı. Her grupta rastgele 10 seminifer tübül içerisindeki spermatogenetik seri hücrelerinin hangi aşamada olduğuna ve tübüllerin yapısına bakılarak her bir tübül için ayrı bir skor verildi ve bunların istatistiksel olarak hesaplanan ortalaması ile grupların ortalama Johnson skorları belirlendi

3.1. Kontrol Grubu

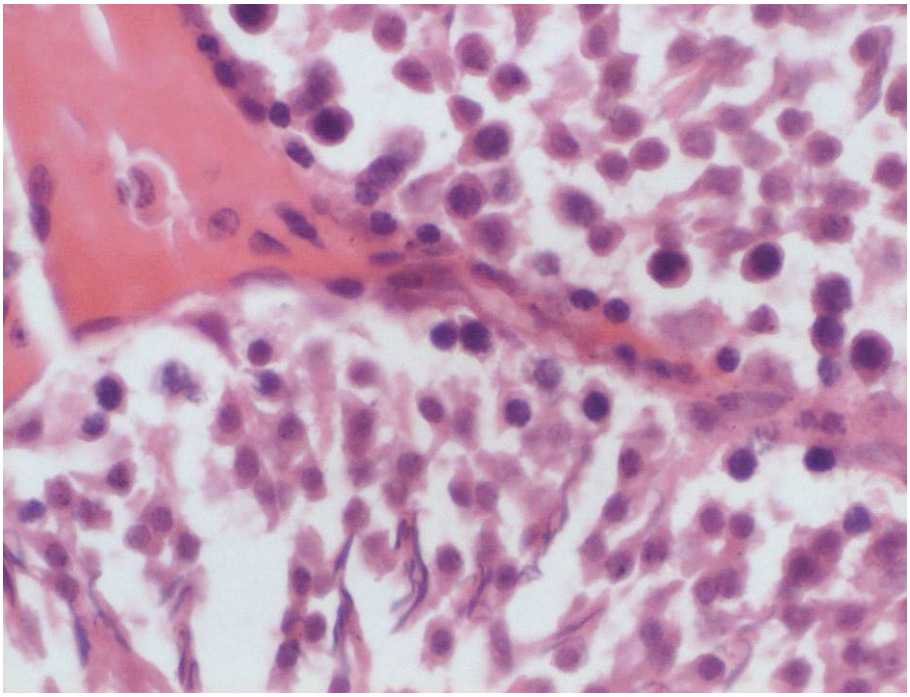
Testis dokusunda seminifer tübüller genellikle düzenli yapıda olup çap ve büyüklükleri bakımından minimal değişkenlik mevcuttu (Resim 3.1.). Seminifer tübül epitelleri düzgün, sertoli hücreleri bazal membran üzerinde dizelenim göstermekteydi. Spermatogenetik seriye ait hücreler, spermatozoaları da içerecek şekilde izlenmekteydi. İnterstisyel alanda kan damarları ve az sayıda Leydig hücresi varlığı dikkati çekti (Resim 3.2., 3.3.). Grubun ortalama Johnson skoru 9,45 olarak tespit edildi.



Resim 3.1. Kontrol grubuna ait Seminifer tübüllerin H&E boyası ile görüntüsü (X40)



Resim 3.2. Kontrol grubuna ait Seminifer tübüllerin H&E boyası ile görüntüsü (X200)

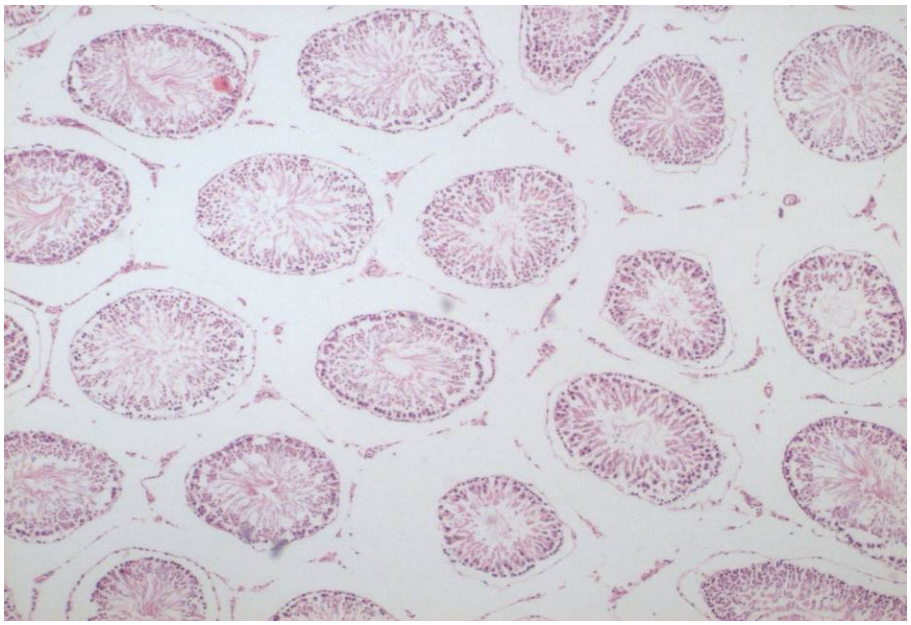


Resim 3.3. Kontrol grubuna ait Seminifer tübülün H&E boyası ile görüntüsü (X400)

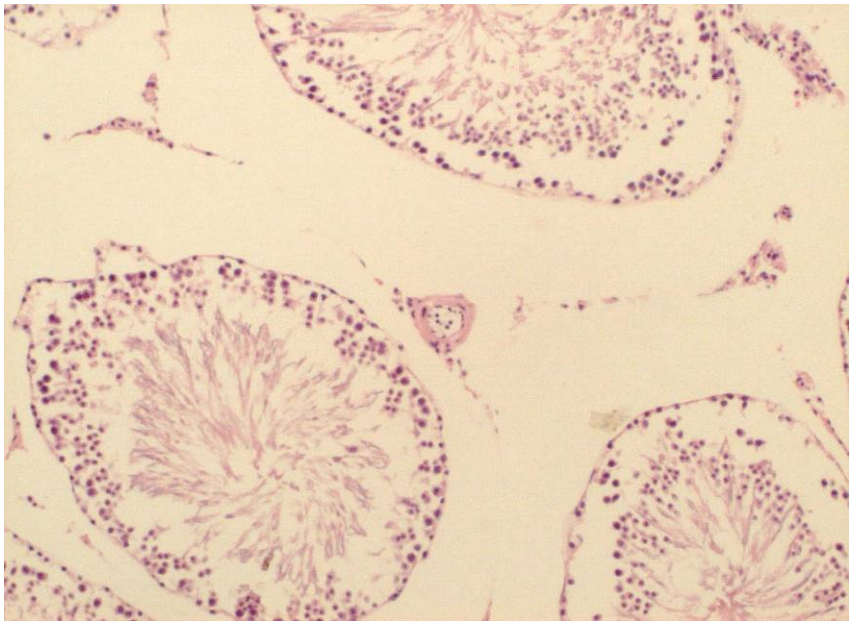
3.2. ALA Grubu

Bu grupta testis dokusunda seminifer tübüllerin çoğu normal yapısını korumakta olup bazı tübüllerde hücrelerin bazal membrandan ayrıldığı görüldü (Resim 3.4., 3.5.); ancak tübüllerin tamamında sertoli hücreleri ve spermatozoaları da

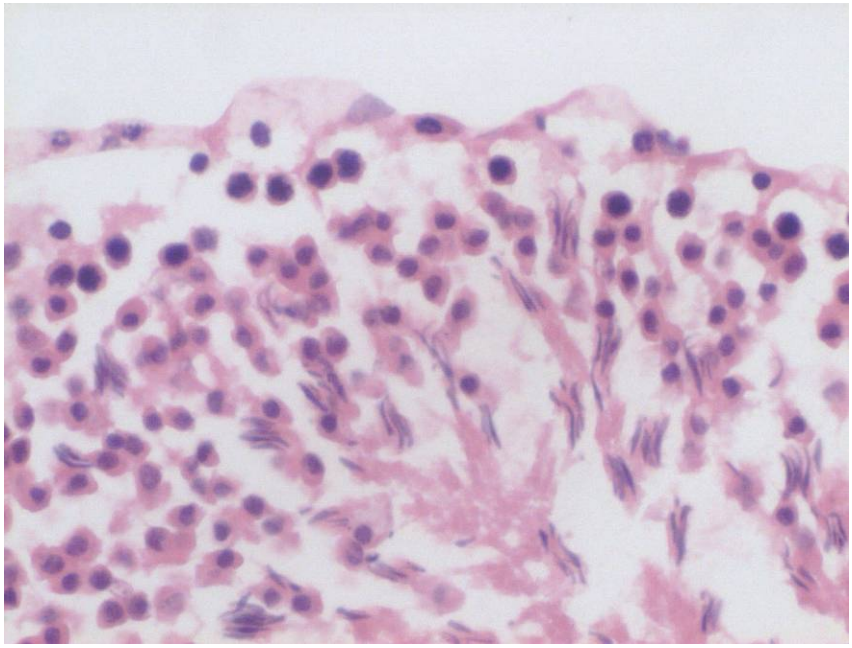
içeren spermatogenetik seri hücreleri mevcuttu (Resim 3.5., 3.6.). İnterstisyel alanda hafif iltihabi hücre infiltrasyonu, kan damarları ve az sayıda Leydig hücresi yanısıra tübülleri birbirinden ayıran ödematöz boşluklar belirgindi (Resim 3.4., 3.5.). Bu grubun ortalama Johnson skoru 7,85 idi.



Resim.3.4. ALA grubuna ait Seminifer tübüllerin H&E boyası ile görüntüsü (X40)



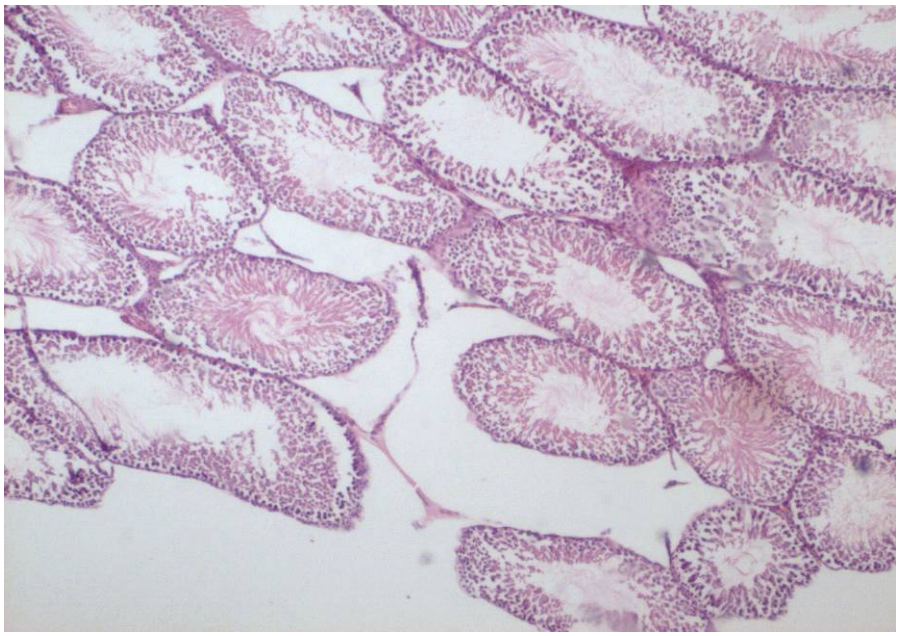
Resim.3.5. ALA grubuna ait Seminifer tübüllerin H&E boyası ile görüntüsü (X100)



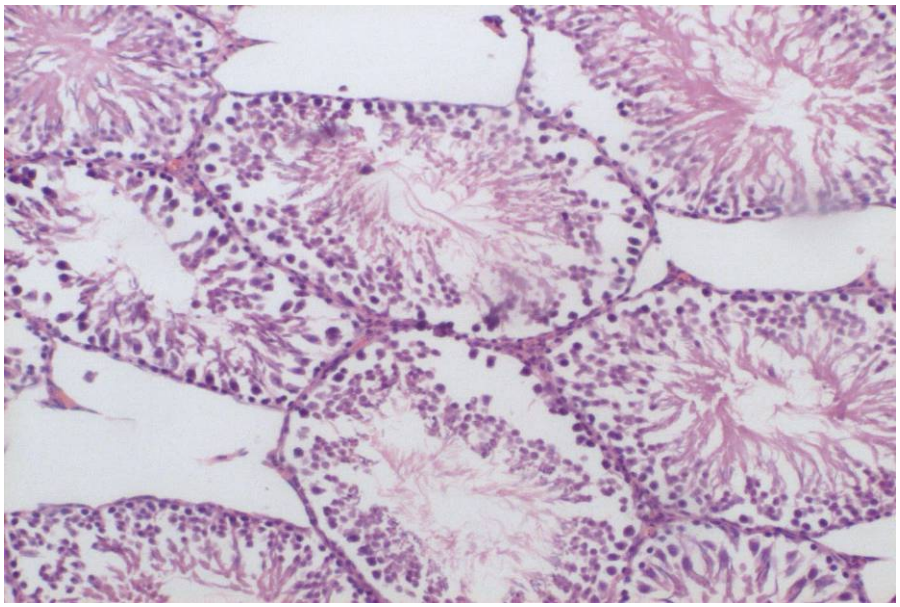
Resim.3.6. ALA grubuna ait Seminifer tübülün H&E boyası ile görüntüsü (X400)

3.3. Diyabet+ALA Grubu:

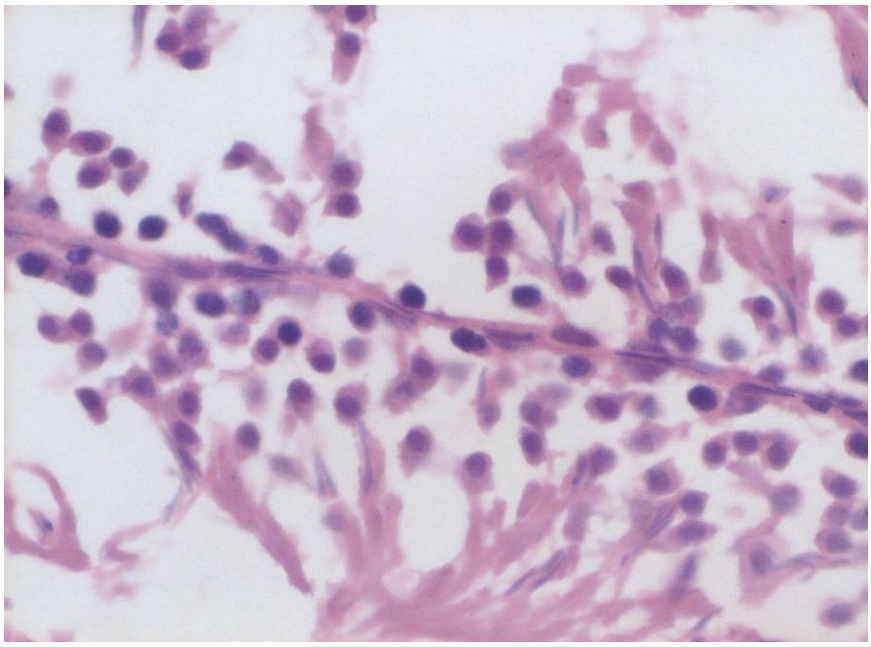
Bu grupta testis dokusundan hazırlanan kesitlerde seminifer tübüllerin çoğunda hücrelerin bazal membrandan ayrılıp lümene döküldüğü ancak sertoli hücreleri ve spermatozoaları da içeren spermatogenetik seri hücrelerinin varlığını koruduğu izlendi (Resim 3.8., 3.9.). İnterstisyel alanda ödem belirgin olup bu saha daha düzensizdi (Resim 3.7.). Ortalama Johnson skoru 9,38 olarak hesaplandı.



Resim 3.7. Diyabet+ALA grubuna ait Seminifer tübüllerin H&E boyası ile görüntüsü (X40)



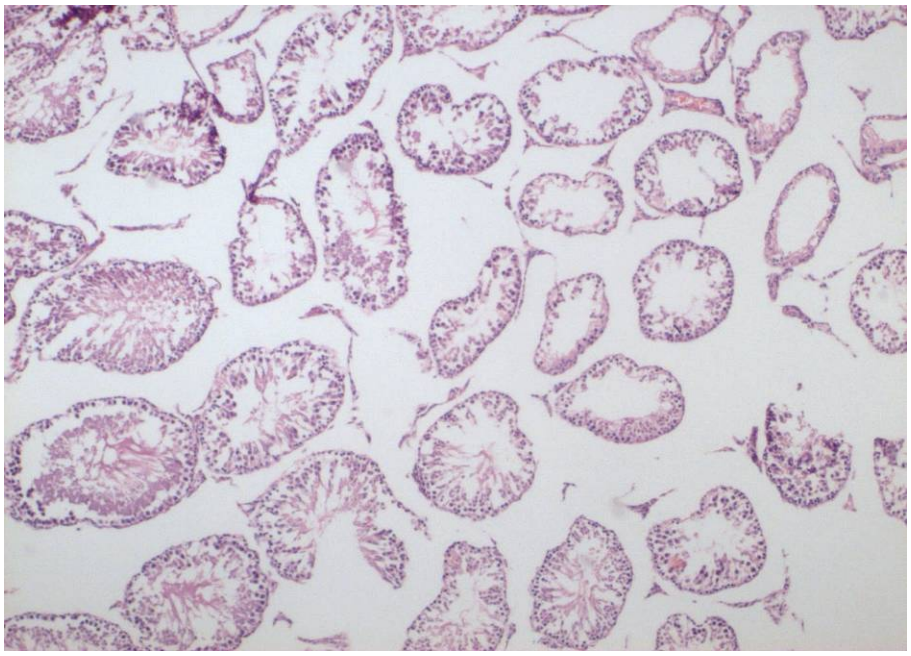
Resim 3.8.: Diyabet+ALA grubuna ait Seminifer tübüllerin H&E boyası ile görüntüsü (X100)



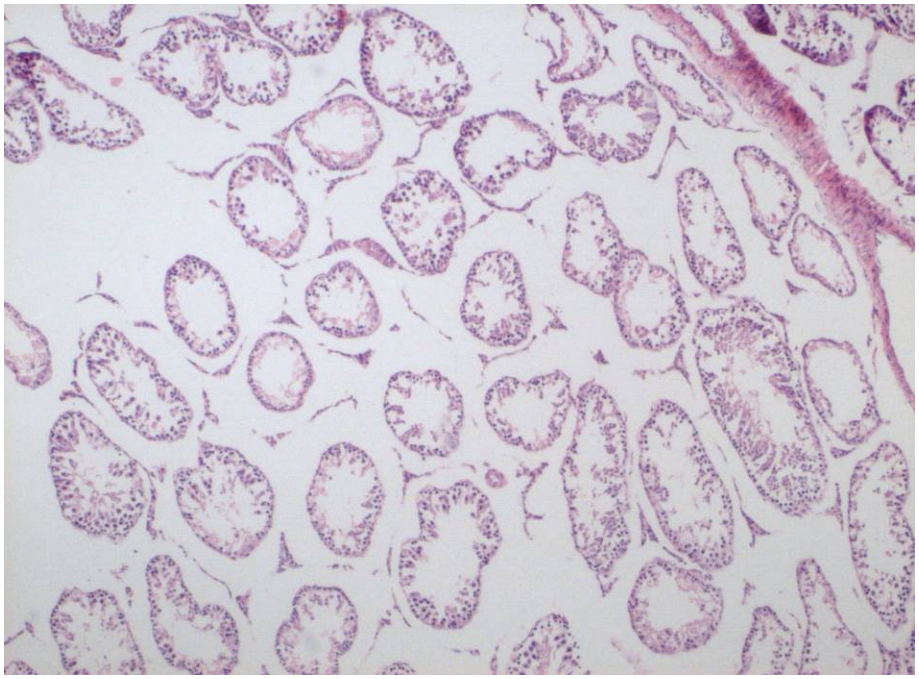
Resim 3.9. Diyabet+ALA grubuna ait Seminifer tübülün H&E boyası ile görüntüsü (X400)

3.4. Diyabet Grubu:

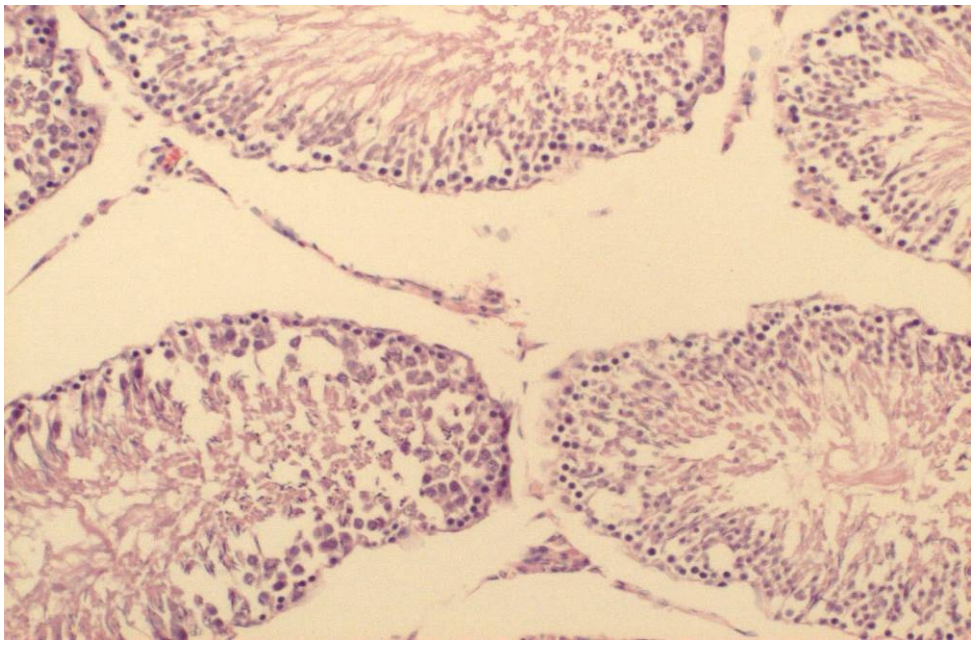
Diyabet grubundaki testis dokusunda ise seminifer tübüllerin çoğunda izlenen atrofik değişiklikler, tübüller arasındaki şekil ve boyut farklılıkları en göze çarpan özelliklerdi (Resim 3.10., 3.11.). Atrofik tübüllerin boyutlarındaki küçülme yanısıra normal yapının bozulduğu, hücrelerin bazal membrandan ayrılarak lümene döküldüğü dikkat çekiciydi (Resim 3.10., 3.11., 3.12.). Atrofik tübüllerde sertoli hücreleri dışında spermatogenetik seri hücrelerinden primer spermatosit ve spermatidler izlendi, ancak spermatozoa görülmedi (Resim 3.13.). Bazı alanlarda normale yakın boyutlarda tübüller mevcut olup bunların lümeninde spermatozoalar da tespit edildi (Resim 3.12., 3.14.). İnterstisyel alan testis dokusunun genelinde ödemli, genişlemiş, Leydig hücrelerinden yoksun idi (Resim 3.10., 3.11., 3.12.). Bu grubundan ortalama Johnson skoru ise 8,04 olarak belirlendi.



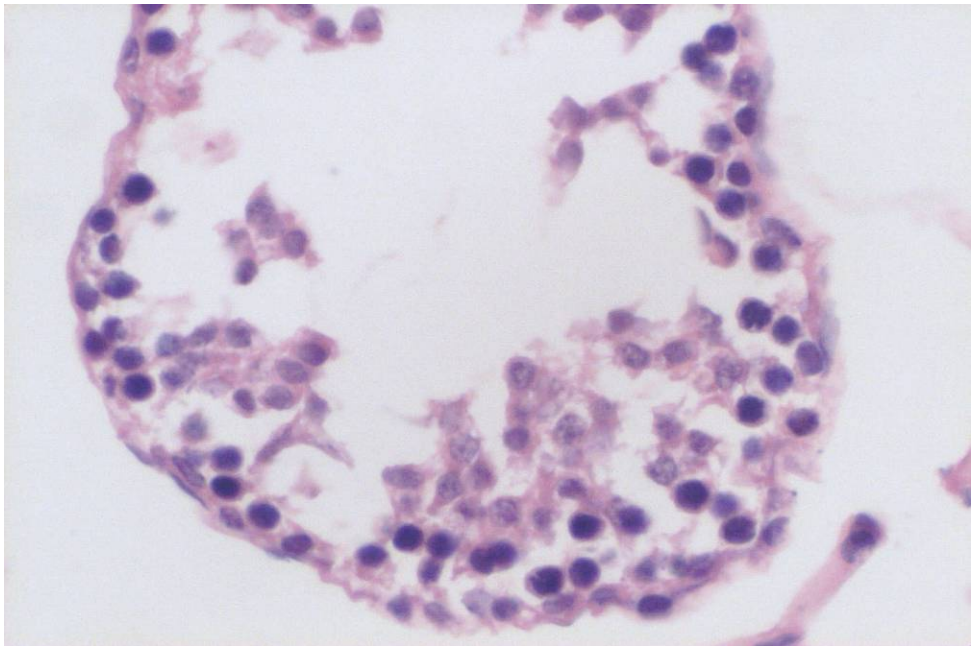
Resim 3.10. Diyabet grubuna ait Seminifer tübüllerin H&E boyası ile görüntüsü (X40)



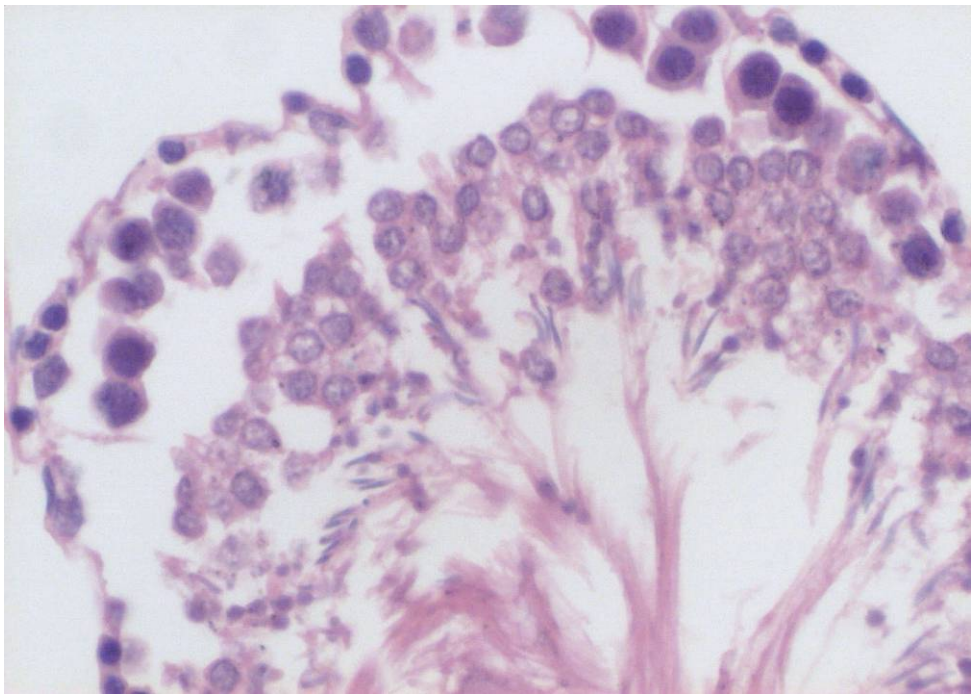
Resim 3.11. Diyabet grubuna ait Seminifer tübüllerin (atrofik) H&E boyası ile görüntüsü (X40)



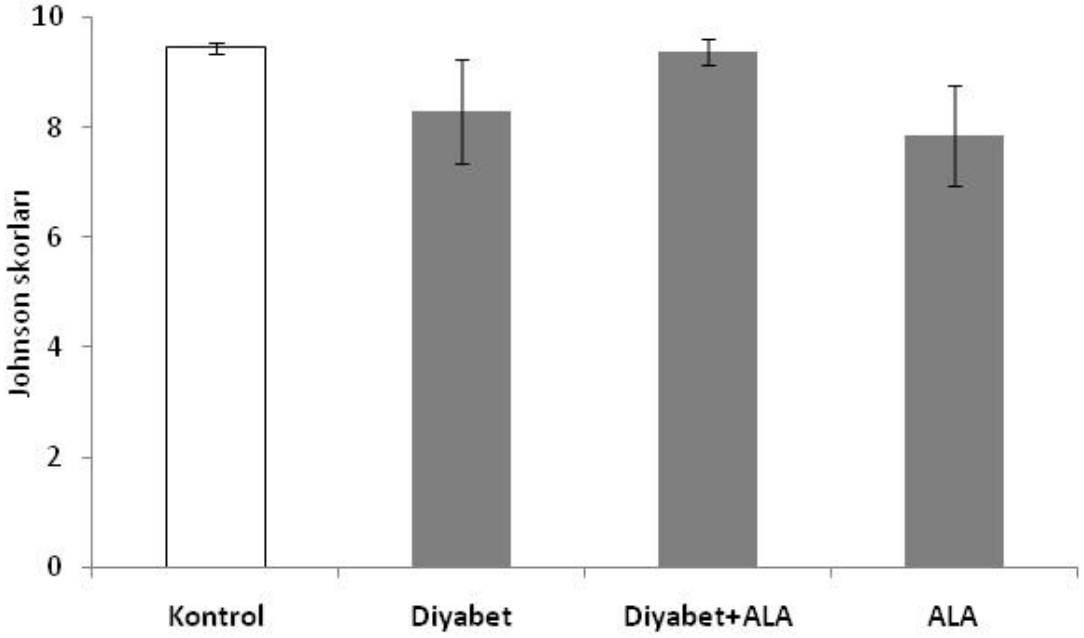
Resim 3.12. Diyabet grubuna ait Seminifer tübüllerin H&E boyası ile görüntüsü (X100)



Resim 3.13. Diyabet grubuna ait Seminifer tübülün H&E boyası ile görüntüsü (X400)



Resim 3.14. Diyabet grubuna ait Seminifer tübülün (atrofik) H&E boyası ile görüntüsü (X400)



Grafik 3.1. Deney gruplarına ait Johnson skorlarının ortalamaları. Veriler ortalama±standart hata olarak verilmiştir.

Tablo 3.1. Her grupta rastgele 10 seminifer tübül içerisindeki spermatogenetik seri hücrelerinin ve tübüllerin yapısına bakılarak verilen Johnson skorlarının her bir deney hayvanı için ortalaması.

No	Kontrol	Diyabet	Diyabet+ALA	ALA
1	9,18	3,60	9,60	5,50
2	9,27	9,90	9,60	5,60
3	9,20	9,90	8,30	10,00
4	9,30	4,50	10,00	9,70
5	9,60	8,80	9,60	10,00
6	9,80	10,00	9,20	6,30
7	9,80	9,60		
8		10,00		
Ortalama.	9,45	8,04	9,38	7,85
St. hata	0,10	0,98	0,24	0,92

4. TARTIŞMA

Diabetes mellitus dünyada sık rastlanan çok yönlü ve birçok organı erken dönemde ve geç dönemde etkisi altına alan bir metabolik hastalıktır. Öyle ki, son 25 yılda dünyanın en öldürücü ya da yaşam kalitesini düşürücü hastalığı olarak bilinmektedir (Zimmet ve ark 2001). Diyabetin vücudun tüm organlarına primer ya da sekonder dönemlerde olmak üzere zarar verdiği bilinmektedir. Görülen bu erken dönem ve geç dönem komplikasyonlar genelde diyabetli hastalarda kardiyomiyopati, retinopati, nefropati, nöropatilerdir. Bunlarla birlikte diyabetin hem erkek hem dişi bireylerde üremeyle ilgili rahatsızlıklara da neden olduğu bilinmektedir (Enzlin ve ark 2002, Rehman ve ark 2001). Diyabetin verdiği bu zarar dokularda oksidatif stresin oluşumuna bağlanmaktadır (Baynes ve Thorpe 1999). Oksidatif stres serbest oksijen radikallerinin oluşumu ve bunları ortadan kaldırmakla görevli enzimlerin aktivitelerinin bozulması sonucu meydana gelmekte, dolayısıyla hücrenin enerji metabolizmasının en önemli üyesi olan mitokondri başta olmak üzere tüm hücre organellerinin ve hücrenin kalıtsal materyali olan DNA'nın zarar görmesine sebep olmaktadır (Shrilatha ve Muralidhara 2007). Oksidatif stresin hücrenin genetik materyalinde meydana getirmiş olduğu bu zarar, DNA'nın kendini replike etmesinde dolayısıyla hücre bölünmesinde bir engel teşkil etmekle kalmayıp çoğu zaman hücreyi apoptozise kadar götüren bir süreci başlatmaktadır. Bu durum diyabetin üremeyle ilgili fonksiyonların gerçekleştiği dişi ve erkek ürogenital sistemlerinde disfonksiyona sebep olmaktadır (Fairburn 1981, Sexton ve Jarrow 1997) İnsanlarda meydana gelen bu hasarın sıçanlara yapılan tek seferlik STZ enjeksiyonu ile oluşturulan deneysel diyabet modellerinde de görüldüğü yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (Scarano ve ark 2006).

Her ne kadar diyabetik erkeklerde meydana gelen testiküler fonksiyon bozukluğunun temelinde yatan faktörler tam olarak bilinmese de oksidatif stresin sonucu olarak vaskülopati, endotelyal disfonksiyon ve erektil dokudaki nöropatinin temel sebepler olduğu düşünülmektedir (Young ve ark 2004). Yapmış olduğumuz çalışma ile diyabetin testiste meydana getirdiği bilinen bu hasarın histopatolojik olarak araştırılması ve oksidatif stres kaynaklı olduğu düşünüldüğünden bir antioksidan tedavisi uygulanarak potansiyel olumlu etkilerinin yine histolojik olarak gösterilmesi amaçlandı. Literatürle uyumlu olarak sıçanlara tek seferlik STZ enjeksiyonu ile oluşturulan diyabette, testis dokusunda seminifer tübüllerin çoğunda

atrofik değişiklikler görüldü. Öztürk ve arkadaşlarının 2002 yılında yapmış olduğu çalışmada deneysel tip 1 diyabetik sıçanların testislerinde tübüler atrofi meydana geldiği gözlenmiştir (Öztürk ve ark 2002). Tip 1 ve tip 2 diyabetin testiste meydana getirmiş olduğu histopatolojik hasarın araştırıldığı bu çalışmada, tip 1 diyabette izlenen testiküler atrofi testosteron düzeyinde meydana gelen düşüşe bağlanmıştır. Cameron ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada da testosteron seviyesindeki azalma ve testiküler atrofi, interstisyel doku içindeki kan damarlarının duvar kalınlaşması ile kapiller fonksiyonun bozulmasına ve tüm bunların sonucu olarak Leydig hücrelerinde dejenerasyonla birlikte disfonksiyon oluşumu ile ilişkilendirilmiştir (Cameron ve ark 1985). Leydig hücrelerinde meydana gelen bu fonksiyon bozukluğunun nedeninin oluşan serbest oksijen radikallerinin ortadan kaldırılmasında görevli birçok enzimin aktivitesinde bozulmaya sebep olarak hücrelerde oksidatif stresin meydana gelmesi olduğu yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (Ricci ve ark 2009). Leydig hücrelerine ait hücre kültürü hatlarında Chen ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmalar göstermektedir ki bu hücre tipinde glutatyon (GSH) aktivitesinde ciddi azalma meydana gelmektedir (Chen ve ark 2010).

Glutatyon (GSH), hücrelerde tiyol indirgenme reaksiyon denegesinin sağlanmasında oldukça önemli bir role sahip antioksidan bir moleküldür. Hücre içi tiyol dengesi, hücrenin enerji metabolizmasıyla ilgili reaksiyonlar sonucu oluşan reaktif oksijen türlerinin (reactive oxygen species= ROS) ortadan kaldırılmasında kritik bir öneme sahiptir (Jones 2006). Glutatyonun indirgenmiş formu ile yükseltgenmiş formu (GSSG) arasında meydana gelen geri dönüşümlü reaksiyonu içeren hücre içi GSH döngüsü, lipit ve proteinlerin enerji metabolizmasında yakılması sonucu meydana gelen hidroksil gruplarının yok edilmesinde önemli olan bir döngüdür. Bu döngü hücredeki ROS miktarı ile koruyucu enzimlerin miktarı arasındaki dengeyi sağlayan hayati bir öneme sahiptir. Diyabet gibi hastalıklarda bu denge bozulmakta ve ortaya çıkan bu stres kondisyonunu düzeltmek amacıyla görevli enzimlerin aktivitesini artıran çeşitli antioksidan uygulamaları yapılarak sonuçları araştırılmaktadır. Literatürde kuvvetli bir antioksidan kimliğiyle öne çıkan ve çeşitli dokulardaki etkileri oldukça iyi bilinen ALA ((*R*)-5- (1,2-dithiolan-3-yl)pentanoik asit), diyabetli kişilere ya da deney hayvanı modellerine *in vivo* olarak uygulandığında durumu düzeltici etki gösterdiği görülmüştür (Jiang ve ark 2008)

Yapmış olduğumuz çalışmada, tüm bu bilgilerden yola çıkılarak sıçan testislerinde diyabet kaynaklı olarak meydana gelen hasarın ALA uygulaması ile düzeltilebilirliği histolojik olarak araştırılmıştır. İnsanlarda görülen tip 1 diyabet ile birçok dokuda yarattığı hasar bakımından yüksek oranda benzerlik gösteren deneysel diyabetik sıçan modelleri bulunmaktadır. Çeşitli kimyasal ajanların (örn, alloksan, streptozotosin vb.) tek seferlik enjeksiyonu ile pankreastan insülin salgısı hücresel düzeyde tahribat yolu ile durdurulmaktadır. Sıçanlarda deneysel yoldan tip 1 diyabet oluşturmada bu yöntemlerden en çok tercih edileni tek seferlik STZ enjeksiyonudur (John 1999). Yapmış olduğumuz çalışmada da bu deneysel hayvan modeli kullanılarak literatürdeki karakteristik bulgularla benzer şekilde vücut ağırığında azalma, sık idrara çıkma, hareketlerde yavaşlama ve kan şekeri düzeyinin üç katına çıktığı bulgular elde edilmiştir. Elde edilen bu bulgularla birlikte kan şekerinin 270 mg/dL seviyesinin üzerine çıktığının tesbit edildiği STZ enjeksiyonunu takip eden 7. günden itibaren ALA enjeksiyonuna başlanmıştır. ALA enjeksiyonunun diyabetin oluşumunun hemen arkasından başlamasının diyabet kaynaklı hasarın geri döndürülmesinden çok, koruyucu amaçlı olduğu düşünülmektedir (Singh ve Jialal 2008). Testislerde diyabete bağlı hasarı önlemede ALA'nın koruyucu olarak uygulandığı herhangi bir histolojik çalışma bulunmamaktadır. Diyabetin testislerde oluşturduğu etki diğer dokulara göre daha zaman alıcı bir sürece sahiptir. Bunun temel sebebinin kan-testis bariyeri olduğu düşünülmektedir. Bununla birlikte herhangi bir antioksidan özellikteki kimyasal uygulandığında da yine kan-testis bariyeri aşarak sertoli hücrelerine ve ardından lümene bu ajanın geçişini zorlaştırmaktadır. Bu sebeple çalışmamızda literatürdeki benzer çalışmalarla uyumlu olarak ALA uygulaması 5 hafta boyunca günde 100 mg/kg olacak şekilde yapılmıştır (Balkis ve ark 2009).

Çalışmamızda kontrol grubuna ait sıçanların seminifer tübülleri normal ve düzenli olarak bulunurken, diyabet grubunda atrofik değişikliklere rastlanmıştır. Bu mikroskobik bulgular Oksanen'in yapmış olduğu çalışmayı destekler niteliktedir (Oksanen 1975). Kontrol grubunda görülen sertoli hücrelerinin bazal membran üzerindeki normal dizelenimi diyabet grubunda görülmedi. Bununla birlikte spermatozoaların da bulunduğu spermatogenetik hücreler beklenildiği gibi sağlıklı hayvanlarda düzgün bir yapılanmaya sahipken, diyabetik hayvanlarda primer

spermatosit ve spermatidler bulunduğu, spermatozoa bulunmadığı gözlendi. Bu durum spermatogenez döngüsünün spermatozoa gelişim evresinde bir sorun olduğunu göstermektedir (Ricci ve ark 2009). Buna karşın diyabet oluşturulmuş ve ALA uygulanmış sıçanlarda sağlıklı sıçanlara benzer bir şekilde spermatozoaların varlığının tespit edilmesi, ALA uygulamasının olumlu etki gösterdiği yönünde bir bulgu olması yönünden önem arz etmektedir.

Diyabetik sıçanların Johnson skor ortalamasının (8,04±0,98) kontrol grubunun skor ortalamasına (9,45±0,10) göre azalmış olarak bulunması diyabetin testis dokusuna verdiği hasarı histolojik olarak belirgin kılmaktadır. Bununla birlikte diyabetik sıçanlara ALA uygulaması Johnson skoru ortalamasını yükseltmiş (9,38±0,24) bulunmuştur. Bu skorlama verileri mikroskobik bulgularda görülen diyabetik sıçanlara ALA uygulamasının olumlu etkisini daha açık ve ölçülebilir bir şekilde ortaya koymaktadır.

İnterstisyel alan incelemesinde, diyabetli sıçanların Leydig hücrelerinden yoksun olduğu belirlenirken, ALA uygulanmış diyabetli sıçanlarda az sayıda Leydig hücresinin varlığı oksidatif stresin bu hücre tipi üzerindeki atrofik etkisiyle açıklanabilmektedir (Ricci ve ark 2009). ALA'nın oksidatif stresi azaltıcı etki göstermiş olması Leydig hücrelerinin sayısındaki azalmanın daha az olduğu sonucunu doğurmuş olabilir. İnterstisyel alanda diyabetli hayvanlarda ödem ve genişleme görülürken ALA uygulanmış diyabetli sıçanlarda ise benzer bir duruma rastlanmamış olması ALA'nın olumlu etkisinin olduğunu düşündürmektedir.

Birçok dokuda zararını oksidatif stres oluşturmak suretiyle gösteren diyabet hastalığının hasarını önlemede antioksidan uygulaması günümüzde oldukça sık tercih edilen bir yöntemdir. Sonuç olarak, yapmış olduğumuz çalışmada kuvvetli bir antioksidan olduğu birçok araştırma neticesinde ortaya konmuş ALA'nın testis dokusu üzerinde diyabete bağlı olarak meydana gelen hasarı önlemede etkili olduğu histolojik olarak gösterilmiştir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Diabetes mellitus, çok uzun yıllar öncesinden beri bilinen ve toplumda görülme sıklığı giderek artan kandaki glukoz konsantrasyonunun kontrol edilemediği metabolik bir hastalıkır.

Başta kalp ve sinir olmak üzere birçok dokuda bu hastalığa bağlı olarak çeşitli patolojiler meydana gelmektedir. Bu patolojiler diyabetin sekonder komplikasyonları olarak adlandırılmaktadır. Sperm üretiminin gerçekleştiği yer olan testis dokularında diyabetli kişilerde ciddi hasarlar meydana gelmektedir. Bu hasarların hangi yolla meydana geldiği tam olarak bilinmese de, birçok çalışmada diyabetlilerin testis dokularında reaktif oksijen türlerinin yeteri kadar ortadan kaldırılamaması sonucu oksidatif stresin meydana geldiği gösterilmiştir. Buna dayanarak, yapmış olduğumuz çalışmada tek seferlik STZ enjeksiyonu ile deneysel tip 1 diyabet oluşturulan sıçanlara literatürde diyabetle meydana gelen oksidatif stresi azaltan etkileri gösterilen ALA uygulamasının, testis dokularında meydana getirebileceği potansiyel olumlu etkileri histolojik olarak araştırılmıştır.

Bu amaç doğrultusunda çalışmamızda ilk olarak, tek seferlik streptozotosin (STZ) enjeksiyonu (50 mg/kg i.p.) ile deneysel diyabet oluşturuldu. Ve diyabet oluşmasının teyid edilmesinin ardından 5 hafta boyunca 100 mg/kg/gün şeklinde ALA uygulaması gerçekleştirildi. Bununla birlikte Kontrol ve Diyabet grubuna yine 5 hafta boyunca 100 mg/kg/gün serum fizyolojik i.p. olarak uygulandı. ALA gurubuna ise sadece 5 hafta boyunca 100 mg/kg/gün ALA enjeksyonu yapıldı. Deney sonunda rutin histolojik doku takibi yapıldıktan sonra HE boyası ile boyanan dokular mikroskopta seminifer tübüllerin genel yapısı, tübül içerisinde gerçekleşen spermatogenez olayındaki spermatogenetik seri hücrelerinin varlığı ve interstisyel alanların gürünümleri yönünden değerlendirildi. Değerlendirme Johnson skorlama sistemiyle gerçekleştirildi. Her grupta rastgele 10 seminifer tübül için ayrı bir skor verildi ve bunarın hesaplanan ortalamaları ile grupların ortalama Johnson skorları belirlendi.

Kontrol grubuna ait olan seminifer tübüllerde önemli değişikliklere rastlanmamasına karşın, Diyabet grubunda tübüllerin çoğunda atrofik değişiklikler göze çarparken primer spermatosit bulunmasına rağmen sermatozoa yoktu. Bunlarla beraber interstisyel alan dokunun genelinde ödemli, genişlemiş ve Leydig

hücrelerinden yoksundu. Hücreler bazal membrandan ayrılmış lümene dökülmüş haldeydi. Bazı alanlarda normale yakın boyutlarda tübüller bulunun bunların lümeninde spermatozoalar tespit edildi. ALA+Diyabet grubunda seminifer tübüllere bakıldığında çoğunda hücrelerin bazal membrandan ayrılıp lümene döküldüğü ve lümende sertoli hücrelerle spermatozoaları içeren spermatogenetik seri gücrelerinin varlığının korunduğu görüldü. İnterstisyel alana bakıldığındaysa ödem belirgin olup bu saha daha düzensiz haldeydi. ALA grubunda seminifer tübüllerin çoğu normal yapısında olup Kontrol grubuyla mikroskobik açıdan önemli farklar yoktu. Gruplara ait Johnson skorları şöyleydi; Kontrol, 9,45; Diyabet, 8,04; Diyabet+ALA, 9,38; ALA, 7,85.

Bu sonuçlara dayanarak diyebiliriz ki; diyabet birçok dokuda olduğu gibi testit dokusunda da oksidatif stres oluşturmak sureti ile hasarlar meydana getirmektedir. Bu hasarları önlemek amacıyla antioksidan uygulaması günümüzde oldukça sık tercih edilir hale gelmiştir. Yaptığımız çalışmada kuvvetli bir antioksidan olarak bilinen ALA'nın testis dokuları üzerinde meydana gelen diyabet kaynaklı hasarı önlemede etkili olduğu histolojik yönden mikroskobik incelemelerle gösterilmiştir.

6. ÖZET

T.C
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Streptozotosin ile Diyabet Oluşturulmuş Sıçanlarda Alfa Lipoik Asidin Testis Dokularına Etkisinin Histolojik Yönden İncelenmesi

"İnci KARA"
Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı
Danışman Prof. Dr. Aydan CANBİLEN
YÜKSEK LİSANS TEZİ KONYA-2010

Dünya popülasyonunun büyük bir kısmını etkisi altına alan metabolik bir hastalık olan diabetes mellitus, hastalığın erken ve geç dönemlerinde birçok doku ve organda hasara yol açmaktadır. Sperm üretiminin gerçekleştiği yer olan testislerde diyabetli kişilerde ciddi hasar meydana geldiği bilinmektedir. Bu hasarın hangi yolla gerçekleştiği tam olarak bilinmemesine karşın birçok çalışmada bu dokuda oksidatif stres meydana geldiği gösterilmiş ve nedeni reaktif oksijen türlerinin yeterince ortadan kaldırılmamasına bağlanmıştır. Bu nedenle yapmış olduğumuz çalışmada, streptozotosin (STZ) ile deneysel tip 1 diyabet oluşturulan sıçanlara literatürde oksidatif stresi azaltıcı etkileri olduğu gösterilmiş olan Alfa Lipoik Asit (ALA) uygulamasının testis dokusuna olası olumlu etkileri histolojik olarak araştırılmıştır. Bu amaçla deneysel diyabet tek seferlik streptozotosin (STZ) enjeksiyonu (50 mg/kg, i.p) oluşturulurken ALA uygulaması ise tip 1 diyabet oluşumunun teyit edilmesinden sonra 5 hafta boyunca 100 mg/kg/gün şeklinde gerçekleştirildi. Bununla birlikte Kontrol ve Diyabet grubuna 5 hafta boyunca 100 mg/kg/gün serum fizyolojik i.p. olarak uygulandı. ALA grubuna ise yalnızca 5 hafta boyunca 100 mg/kg/gün ALA enjeksiyonu yapıldı. Dokular, seminifer tübüllerin genel yapısı, tübül içerisindeki spermatogenetik seri hücrelerinin varlığı ve interstisyel alanın görünümü yönünden incelendi. Değerlendirme Johnson skorlama sistemiyle yapıldı.

Kontrol grubunun seminifer tübüllerinde önemli bir değişikliğe rastlanmazken Diyabet grubununda tübüllerin çoğunda atrofik değişiklikler göze çarptı, primer spermatosit ve spermatidler bulunmasına karşın spermatozoa görülmedi. Hücrelerin bazal membrandan ayrılarak lümene döküldüğü dikkat çekiciydi. ALA+Diyabet gurubunda seminifer tübüllerin çoğunda hücrelerin bazal membrandan ayrılıp lümene döküldüğü ancak sertoli hücreleri ve spermatozoaları da içeren spermatogenetik seri hücrelerinin varlığını koruduğu izlendi. ALA grubunda seminifer tübüllerin çoğu normal yapısında olup Kontrol grubuyla mikroskobik yönden önemli bir fark gözlenmedi. Gruplara ait Johnson skorları; Kontrol, 9,45; Diyabet 8,04; Diyabet+ALA 9,38; ALA, 7.85 olarak belirlendi.

Anahtar Sözcükler: Diyabet; Alfa Lipoik Asit, Testis

7. SUMMARY

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Histological Investigation of Alpha Lipoic Asid's Antioxidant Effect on The Testes Tissues in Streptozotocin Indused Diabetes Rats

"İnci KARA"
Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı
Danışman Prof. Dr. Aydan CANBİLEN
YÜKSEK LİSANS TEZİ KONYA-2010

Diabetes is a metabolic disorder effecting most of the world's population causes damage in many tissue and organs in both early and late stages. It is already known that in diabetic patient there is serious damage in testes where sperms are produced. Although underlying mechanism of this damage is not understood well, in many researches it is shown that this damage caused by oxidative stres in this tissue. Therefore, in this study, we wanted to investigate the possible positive effects of Alpha Lipoic Acid (ALA) which is a well known antioxidant in literature in the streptozotocin (STZ) injected experimantal type 1 diabetic rat testes histologically. For the aim of the study while diabetes was induced by single injection of STZ (50 mg/kg, i.p), ALA administration was made for 5 weeks as 100 mg/kg/day following the confirmation of diabetes induction. Besides this, control and diabetic group was received a 5 week injection of the physiological salt solution as 100 mg/kg/day, i.p. ALA group was received only the ALA for 5 weeks as 100 mg/kg/day. Tissues were evaluted for the general structure of seminifer tubules, presence of spermatogenetic cells in tubules and the appearance of interstitial space. Evaluation was made according to the Johnson scoring system.

In Diabetic group athrophic alterations were visible in tubules, although there were primer spermatocytes and spermatids, spermatozoa were not seen while there were not any changes seen in control group. It was remarkable that the cells were leaved the basal membrane and poured to the lumen. In the most of the seminipher tubules, cells were leaved the basal membrane and poured to the lumen in ALA+Diabet group. However, it was also visible that spermatogenetic serial cells were still exist which include sertoli cells and spermatozoons. In ALA group, seminipher tubules were structurally normal and there was not any difference with control group microscopically. Johnson scores were as follows; Control, 9.45; Diabet 8.04; Diabet+ALA 9.38; ALA, 7.85.

Keywords: Diabetes; Alpha Lipoic Acid, Testes

8.KAYNAKLAR

1. Abou-Seif MA, Youssef AA. Evaluation of Some Biochemical Chenges in Diabetic Patients. Clin. Chim. Acta, 2004; 346: 161-170
2. Abraham L. Kierszenbaum, MD, PhD. Histoloji ve Hücre Biyolojisi. Patolojiye Giriş. In: Demir R. Ankara, Palme Yayıncılık, 2006.
3. ADA (American Diabetes Association). Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. Diabetes Care, 2005; 28 (1): 37-43.
4. ADA (American Diabetes Association). Diagnosis and classification of diabetes mellitus. Diabetes Care, 2006; 29 (1): 43-48.
5. Agarwal MK. Streptozotocin: mechanisms of action: proceedings of a workshop held on 21 June 1980, Washington, DC. FEBS Lett, 1980, 120 (1):1-3.
6. Aksoy T. Karbonhidrat Metabolizması, Diabetes Mellitus. İstanbul Alemdar Ofset. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Yayınları, 1988; 24-88.
7. Altan N, Sepici-Dincel A, Koca C. Diabetes mellitus ve Oksidatif Stres. Turk J Biochem 2006; 31 (2): 51-56
8. Altay B, Çetinkalp S, Doğanavsargil B, Hekimgil M, Semerci B. Streptozotocin-induced diabetic effects on spermatogenesis with proliferative cell nuclear antigen immunostaining of adult rat testis, Fertility and Sterility, 2003.
9. Altındaş M. Cilt hastalıkları ve yara bakımı sempozyumu. İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi sürekli tıp eğitimi etkinlikleri. İstanbul, 2001; 121-126.
10. Alvarez S, Boveris A, Lipoic acid and prevention of oxidative damage. Ciencia Cultura, 1995; 47: 358-361.
11. Arıcıoğlu A. Serbest oksijen radikalleri ve hücre hasarı. Doktor, 1994.
12. Arıncı K, Elhan A. Anatomi.Cilt 1-2. Ankara, Güneş Matbaacılık, 1999.
13. Arivazhagan P, Panneerselvam C, Effect of DL-alpha-lipoic acid on neural antioxidants in aged rats. Pharmacol Res, 2000; 42: 219–222.
14. Arivazhagan P, Ramanathan K, Panneerselvam C, Effect of DL-alpha-lipoic acid on mitochondrial enzymes in aged rats. Chem–Biol Interact, 2001; 138: 189-198.
15. Baccetti B, Marca A, Piomboni P, Capitani S, Bruni E, Petraglia F, Ve De Leo V, , İnsulin-dependent diabetes in men is associated with hypothalamo-pituitary derangement and with impairment in semen quality, Human Reproduction, 2002; 17: 2673-2677.
16. Backhouse K M. Embryology of testicular descent and maldescent, Urol. Clin. North. Am., 1982; 9: 315-325
17. Ballester J, Munoz MC, Dominguez J, Guinovart JJ, Rodrıguez-Gill JE, , İnsulin dependent diabetes affects testicular function by FSH- and LH-linked mechanisms, J Androl. 2004; 25 (5):706-19.
18. Balkis Budin S, Othman F, Louis SR, Abu Bakar M, Radzi M, Osman K, Das S, Mohamed J. Effect of alpha lipoic acid on oxidative stress and vascular wall of diabetic rats. Rom J Morphol Embryol, 2009;50 (1):23-30.
19. Baynes JW. Role of oxidative stress in development of complications in diabetes. Diabetes, 1991; 40: 405-412.
20. Baynes J W, Thorpe SR. Role of oxidative stres in diabetic complications. Diabetes, 1999; 48: 1-9.
21. Bayşu N.“Temel Biyokimya”, Fırat Üniversitesi Veteriner FakültesiYayınları. Ankara, 1979.
22. Betteridge DC, What is oxidative stres?. Metabolism, 2000; 49: 3-8.
23. Biewenga G, de Jong J, Bast A. Lipoic acid favors thiolsulfinate formation after hypochlorous acid scavenging: a study with lipoic acid derivatives. Arch Biochem Biophys, 1994; 312:114-20.
24. Boekelheide K, Fleming SL, Johnson KJ, Patel SR, Schoenfeld HA. Role of Sertoli cells in injury-associated testicular germ cell apoptosis. Proc Soc Exp Biol Med, 2000; 225 (2): 105-15.
25. Bonnevie-Nielsen V, Steffes MW, Lernmark A. A major loss in islet mass and B-cell function precedes hyperglycemia in mice given multiple low doses of streptozotocin. Diabetes, 1981;30 (5):424-9.
26. Bulut U, Develioğlu H, Taner IL, Sarfakoğlu E. Interleukin 1 Beta Levels in Gingival Crevicular Fluidin Type II Diabetes Mellitus and Adult Periodontitis. Journal of Oral Science, 2001; 43 (3): 171-177.
27. Bustamante J, Lodge JK, Marcocci L, Tritschler HJ, Packer L, Rihn BH. Alphalipoic acid in liver metabolism and disease. Free Radic Biol Med, 1998; 24:1023-1039.

28. Cameron DF, Murray FT, Drylie DD. Interstitial compartment pathology and spermatogenic disruption in testes from impotent diabetic men. Anat Rec ,1985; 213:53-62.
29. Campbell Üroloji. 8. Baskı, Güneş Kitabevi, 2005: 76-78
30. Carlson BM, Patten's Foundations of Embriyology, sixth edition, McGraw-Hill, Inc., 1996.
31. Ceriello A, Acute hyperglycemia and oxidative stress generation. Diabetic Medicine., 1997; 14 (Supplement.3): 45-49.
32. Champe PC, Harvey RA. Biyokimya. In: Tokullugil A, Dirican M, Ulukaya E, ed. 2. Baskı. İstanbul, Nobel Tıp Kitabevleri. 1997.
33. Chen H, Zhou L, Lin CY, Beattie MC, Liu J, Zirkin BR. Effect of glutathione redox state on Leydig cell susceptibility to acute oxidative stress. Mol Cell Endocrinol. 2010; 323 (2):147-54.
34. Cherubini A, Ruggiero C, Polidori MC, Mecocci C. Potential markers of oxidative stress in stroke. Free radical biology & medicine. 2005; 39: 841-852.
35. Conget I. Diagnosis, classification and Pathogenesis of Diabetes Mellitus. Rev. Esp. Cardiol. 2002; 55 (5): 528-535.
36. Coşkun O, Kanter M, Korkmaz A, Oter S. Quercetin, a flavonoid antioxidant, prevents and protects streptozotocin-induced oxidative stress and β-cell damage in rat panceas. Pharmacol Res 2005; 51: 117-123.
37. Cutler RG, Plummer J, Chowdhury K, Heward C. Oxidative stress profiling: Part II. Theory, Technology, and Practice, Ann NY Acad Sci. 2005.
38. Dunn JS. Necrosis of the islets of Langerhans produced experimentally. Journal of Pathology and Bacteriology. 1943;55: 245.
39. Dündar Y, Aslan R. Hekimlikte oksidatif stres ve antiokasidanlar.1. baskı. Afyon kocatepe üniversiresi yayınları. Ankara. 2000: 29 (1): 5,6,9-11,30,52.
40. Eiselein L, Schwartz HJ, Rutledge JC.. The challenge of type I diabetes mellitus. ILAR J. 2004.
41. Eisenborth JS, Polonsky KS, Buse JB. Type 1 diabetes mellitus. Lorsen R, Kronenberg H, Melmed S, Polonsky KS. In: Williams Textbook of Endocrinology. 10th edition. Pennsylvania: Elsevier Science. 2003; 1485-508.
42. Ekoé JM. Epidemiology of non-insulin-dependent diabetes mellitus (NIDDM). Diabetes Res Clin Pract. 1988;4 Suppl 1:66-70.
43. Ekoé JM, Ghadirian P, Simard A, Baillargeon J, Perret C. Diabetes mellitus and pancreatic cancer: a case-control study in greater Montreal, Quebec, Canada. Rev Epidemiol Sante Publique. 1992;40 (6):447-53.
44. Enzlin P, Mathieu C, Van den Bruel A, Bosteels J, Vanderschueren D, Demyttenaere K, Diabetes Care. 2002; 25: 672-677
45. Estrada DE, Ewart HS, Tsakiridis T, et al. Stimulation of glucose uptake by the natural coenzyme alpha-lipoic acid/thioctic acid: participation of elements of the insulin signaling pathway. Diabetes 1996;45:1798-804.
46. Evans JL, Maddux BA, Goldfine ID. Antioxidants in diabetic complications and insulin resistance. In Diabetes: From Researh to Diagnosis and Treatment. 2003; 29: 479-496.
47. Fairburn CG. The sexual problems of diabetic men. British Journal of Hospital Medicine. 1981; 25: 484–491.
48. Fang YZ, Yang S, Wu G. Free radicals, antioxidants, and nutrition. Nutrition. 2002; 18: 872-879.
49. Foulis AK, Stewart JA. The pancreas in recent-onset type 1 (insulin-dependent) diabetes mellitus: insulin content of islets, insulitis and associated changes in the exocrine acinar tissue. Diabetologia. 1984;26 (6):456-61.
50. Gandy SE, Buse MG, Crouch RK. Protective role of superoxide dismutase against diabetogenic drugs. J Clin Invest. 1982;70 (3):650-8.
51. Garcia-Estrada J, Gonzalez-Perez O, Gonzalez- Castaneda RE, Martinez-Contreras A, Luquin S, dela Mora PG, et al. An alpha-lipoic acid-vitamin E mixture reduces post-embolism lipid peroxidation, cerebral infarction, and neurological deficit in rats. Neurosci Res. 2003; 47:219-224.
52. Gültekin M. Koroziv Özofagus Oluşturulan Ratlarda Subakut Yara İyileşmesinde Alfa Lipoik Asitin Metilprednisolon ve Sukralfatla Karşılaştırmalı Çalışması (Deneysel Çalışma). Konya Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Göğüs Cerrahisi Anabilim Dalı Tıpta Uzmanlık Tezi. 2009.
53. Gutteridge JMC. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. Clin Chem 1995; 41: 819-1928.
54. Guyton AC. Resting membrane potential. John E hall eds. Textbook of medical physiology. 11st ed, Saunders, Missouri, 2005.

55. Gürsoy E, Koptagel E: Embriyoloji Atlası, Esnaf ofset matbaacılık. 1997.
56. Halliwell B, Chirico S. Lipid peroxidation: Its mechanism, measurement and significance. Am J Clin Nutr, 1993; 57 (5 supp): 715-24.
57. Halliwell B, Gutteridge JMC. Free Radicals in Biology and Medicine, Oxford University Press. 2000.
58. Hassa H, İnfertil Olgulara Klinik Yaklaşım ve IVF Laboratuar Uygulamaları. Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Basımevi. 2003
59. Hasselbaink DM, Glatz JFC, Luiken JJFP, Roemen THM, Vusse GJV. Ketone Bodies Disturb Fatty Acid Handling in Isolated Cardiomyocytes Deriver From Control and Diabetic Rats. Biochem J. 2003; 371: 753-760
60. Heller B, Burkhart V, Lampeter E, Kolb H. Antioxidant therapy for the prevention of type 1 diabetes. Adv Pharm 1997; 38:629-638.
61. Hermann R, Niebch G, Borbe HO, Fieger H, Ruus P, Nowak H, Riethmller-WinzenH et al, Enantioselective pharmacokinetics and bioavailability of different racemic α-lipoic acid formulations in healty volunteers. Eur J Pharm Sci, 1996; 4:167-174.
62. Heyns C F. The gubernaculum during testicular descent in the human fetus, J. Anat. 1987; 153: 93-112.
63. Hoftiezer V, Carpenter AM. Comparison of streptozotocin and alloxan-induced diabetes in the rat, including volumetric quantitation of the pancreatic islets. Diabetologia. 1973; 9 (3):178-84.
64. Hutson JM, Hasthorpe S, Heyns CF. Anatomical and functional aspects of testicular descent and cryptorchidism, Endocr. Rev., 1997; 18: 259-280
65. Ihara Y, Toyokuni S, Uchida K et al., Hyperglycemia causes oxidative stress in pancreatic β cells of GK rats , a model of type 2 diabetes. Diabetes. 1999;48 (4): 927-932.
66. Itoh M, Terayama H, Naito M, Ogawa Y, Tainosho S. Tissue microcircumstances for leukocytic infiltration into the testis and epididymis in mice. J Reprod Immunol. 2005; 67 (1-2):57-67.
67. Jacob S, Henriksen EJ, Schiemann AL, et al. Enhancement of glucose disposal in patients with type 2 diabetes by alpha-lipoic acid. Arzneimittel-Forschung 1995;45:872-874.
68. Jiang YJ, Gong DX, Liu HB, Yang CM, Sun ZX, Kong CZ.Ability of alpha-lipoic acid to reverse the diabetic cystopathy in a rat model. Acta Pharmacol Sin. 2008; 29 (6): 713-9.
69. Junod A, Lambert AE, Stauffacher W, Renold AE. Diabetogenic action of streptozotocin: relationship of dose to metabolic response. J Clin Invest. 1969;48 (11):2129-39.
70. Junqueira LC, Carneiro J, Kelley RO. Temel Histoloji. In: Aytekin Y, Solakoğlu S, Ahıshalı B, ed. 8. Baskı, İstanbul, Barış Kitabevi, 1998.
71. John H. McNeill, Experimental models of diabetes. 1st ed, Informa Healthcare 1999: 3-14
72. Johansson EB, Tjalve H. Studies on the tissue-disposition and fate of [14C]streptozotocin with special reference to the pancreatic islets. Acta Endocrinol (Copenh). 1978;89 (2):339-51
73. Jones DP. Redefining oxidative stress. Antioxid. Redox Signal. 2006; 8: 1865–1879.
74. Kagan VE, Shveodova A, Serbinova E, Khan S, Swanson C,Powell R, Packer L,. Dihydrolipoic acid: A universal antioxidant both in the membrane and in the aqueous phase. Biochem Pharmacol. 1992; 44:1637-49
75. Kalaycı Ş. Histoloji Bursa, Uludağ Üniversitesi Basımevi, 1986.
76. Kaloğlu C, Gürsoy E. Sıçanlarda gonadların gelişimi ve testiküler farklılaşma. İstanbul Cerrahpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi. 1997; 18: 243-251
77. Kanter MM. Free radicals and exercise: Effects of nutritional antioxidant supplementation. Exerc Sport Sci Rev. 1995; 23: 375-398.
78. Karataş S. Sıçanlarda Kadmiyum Klorürün (CdCl2) Testis Dokusuna Etkisi. Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji Ve Embriyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi. 1998.
79. Kayalı H, Satıroğlu G, Taşyürekli G, İnsan Embriyolojisi, 7. Baskı, İstanbul, Alfa Basım Yayım Dağıtım. 1992.
80. Kenneth B, Beckman KB, Ames BN. The Free Radical Theory of Aging Matures. Physiol Rev 1998; 78: 547-581.
81. Kubota Y, Temelcos C, Bathgate RA, Smith KJ, Scott D, Zhao C, Hutson J M. The role of insulin 3, testosterone, Mullerian inhibiting substance and relaxin in rat gubernacular growth, Mol. Hum. Reprod. 2002; 8: 900-905.
82. Kwon NS, Lee SH, Choi CS, Kho T, Lee HS. Nitric oxide generation from streptozotocin. FASEB J. 1994;8 (8):529-33.

83. Liang JF, Akaike T. Inhibition of nitric oxide synthesis in primary cultured mouse hepatocytes by α-lipoic acid. Chem Biol Interact 2000;124:53-60.
84. Lipinski B: Pathophysiology of oxidative stress in diabetes mellitus. J Diabetes Complications 2001; 15: 203-210.
85. Liu J, Atamna H, Kuratsune H, Ames BN, Delaying brain mitochondrial decay and aging with mitochondrial antioxidants and metabolites. Ann NY Acad Sci, 2002; 959: 133-166.
86. Lombardo YB, Chicco AG. Effect of Dietary Polyunsaturated n-3 Fatty Acids on Dyslipidemia and İnsulin Resistance in Rodents and Humans. A Review. Journal of Nutritional Biochemistry, 2006;17: 1-13.
87. Maritim A, Dene BA, Sanders RA. Effects of pycnogenol treatment on oxidative stress in streptozotocin induced diabetic rats. J Biochem mol. Toxicol. 2003; 17 (3): 193-199.
88. Merzouk H, Madani S, Chabane- Sari,D. Prost J, Bouchenak M and Belleville J. Time course of changes in insulin, lipids and tissue lipase activities in macrosomic offspring of rats with streptozotocin-induced diabetes. Clin Sci 2000; 98: 21-30.
89. Moini H, Packer L, Saris NL, Antioxidant and prooxidant activities of α-lipoic acid and dihydrolipoic acid. Toxicology and applied pharmacology, 2002; 182:84-90.
90. Moore KL, Persaud TVN. Klinik Yönleri ile İnsan Embriyolojisi. In: Yıldırım M, Okar İ, Dalçık H, editors. 1. Baskı, İstanbul, Nobel Tıp Kitap Evi, 2002.
91. Mullarkey CJ, Edelstein D, Brownlee L. Free radical generation by early glycation pruducts: a mechanism for acceleratet atherogenesis in diabetes, Biochemical and Biophysical Research Communications; 1990; 173: 932-939.
92. Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW, Harper'ın Biyokimyası. In: Menteş G, Ersöz B. editors. İstanbul, Barış Kitabevi. 1993.
93. National Institute Of Diabetes And Digestive and Kidney Diseases. Diabetes Overwiev. 2006.
94. Navari-Izzo F,Quartacci MF,Sgherri C. Lipoic acid:a unique antioxidant in the detoxification of activated oxygen species.Plant Physiol Biochem. 2002; 40:463- 470.
95. Neal R, Cooper K, Kellogg G, Gurer H, Ercal N. Effects of some sulfurcontaining antioxidants on leadexposed lenses. Free Radic Biol Med. 1999; 26: 239-243.
96. Neugebauer S, Baba T, Watanabe T. Association of The Nitric Oxide Synthase Gene Polymorphism With An Increased Risk For Progression to Diabetic. Diabetes. 2000; 40 (3): 500-504
97. Nickander KK, McPhee BR, Low PA, Tritschler H. Alpha-lipoic acid: antioxidant potency against lipid peroxidation of neural tissues in vitro and implications for diabetic neuropathy. Free Radic Biol Med 1996;21:631-39.
98. Noyan A. Yaşamda ve Hekimlikte Fizyoloji. 17. baskı. Ankara, Meteksan Kağıt-Karton Üretim Tesisleri. 2008.
99. Odar İV. Anatomi. Hacettepe Kitapçılık Ltd. Şti, 1986.
100. Oksanen A. Testicular lesions of streptozotocin diabetic rats. Horm Res. 1975;6 (3):138-44.
101. Onat T, Emerk K, Sözmen EY. İnsan Biyokimyası. Ankara. Palme Yayıncılık. 2002.
102. Orhan Y. Sencer E. Endokrinoloji, metabolizma ve beslenme hastalıkları. 1. baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi. 2001;246-51.
103. Ou P, Nourooz-Zadeh J, Tritschler HJ, Wolff S. Activation of aldose reductase in rat lens and metal-ion chelation by aldose reductase inhibitors and lipoic acid. Fre Radic Res.1996;25:337-46.
104. Öztürk F, Gül M, Ağkadir M, Yağmurca M. Deneysel Diyabetin Sıçan Testislerinde Meydana Getirdiği Histolojik Değişiklikler. T Klin Tıp Bilimleri 2002; 22:173-178.
105. Palmer JP. Predicting IDDM.. Diabetes reviews. 1993;104-115.
106. Packer L, Witt EH, Tritschler HJ, Alpha-lipoic acid as a biological antioxidant. Free radical biology and medicine, 1995, 19: 227-250.
107. Parcell S. Sulfur in human nutrition and applications in medicine. Altern Med Rev. 2002; 7:22-44.
108. Rajasekaran S, Sivagnanam K, Subramanian S. Antioxidant effect of Aloe vera gel extract in streptozotocin-induced dibates in rats. Pharmacol Rep 2005; 57: 90-96.
109. Rakieten N, Rakieten ML, Nadkarni MV. Studies on the diabetogenic action of streptozotocin (NSC-37917). Cancer Chemother Rep. 1963;29:91-8.
110. Rehman K, Beshay E, Carrier S, Sex. Repro. Med. 2001; 1: 29-33 .
111. Ricci G, Catizone A, Esposito R, Pisanti FA, Vietri MT, Galdieri M. Diabetic rat testes: morphological and functional alterations. Andrologia. 2009; 41 (6):361-8.
112. Robbins MJ, Sharp RA, Slonim AE, Burr IM. Protection against streptozotocin-induced diabetes by superoxide dismutase. Diabetologia. 1980;18 (1):55-8.

113. Ross MS, Romrell LJ. Histologya Text and Atlas. William &Wilkins. 2nd ed.1989: 603-646
114. Rösen P, Du X, Tschöpe D. Role of oxygen derived radicals for vascular dysfunction in the diabetic heart: prevention by α-tocopherol. Molecular and Cellular Biochemistry 1998; 188 (1- 2): 103-111.
115.Rubin RJ, Altman WM, Mendelson DN. Health care expenditures for people with diabetes mellitus. J Clin Endocrinol Metab. 1994;78 (4):809A-809F.
116. Ruhnau KJ, Meissner HP, Finn JR, Reljanovic M, Lobisch M, Schütte K, et al. Effects of 3-week oral treatment with the antioxidant thioctic acid (alpha-lipoic acid) in symptomatic diabetic polyneuropathy.Diabet Med. 1999; 16 (12):1040-3.
117. Rybak LP, Husain K, Whitworth C, Somani SM. Dose dependent protection by lipoic acid against cisplatin-induced ototoxicity in rats: antioxidant defense system. Toxicol Sci 1999;47 (2):195-202.
118. Sadler T. W.: Langman's Medical Embryology, 8. Edition, Lippincott Williams & Wilkins. 2000.
119. Sailaja YR, Baskar R, Saralakumari D. The Antioxidant Status During Maturation of Reticulocytes to Erythrocytes in Type II Diabetes. Free Radical Biology and Medicine. 2003; 35 (2): 133-139.
120. Sampaio FJ, Favorito L A. Analysis of testicular migration during the fetal period in humans, J. Urol. 1998; 159: 540-542.
121. Sarıkaya Ş. Genital embriyoloji. Türk Üroloji Yeterlilik Kurulları Sınav Hazırlık Kitabı,İstanbul, Kongre Basımevi, 2006: 31-36.
122. Scarano W R, Messias AG, Oliva SU, Klinefelter GR, Kempinas W G. Sexual behaviour, Sperm Quality and quality after short-term streptozotcin-induced hyperglycemia in rats. International Journal of Andrology. 2006; 29: 482–488.
123. Schleicher ED, Wagner E, Nerlich AG. Increased accumulation of the glycoxidation product N (epsilon)- (carboxymethyl)lysine in human tissues in diabetes and aging. J ClinInvest 1997;99:457-68.
124. Scott B, Aruoma O, Evans PJ, O'Neill C, van der Vliet A, Cross CE, Tritscher H, Halliwell B,. Lipoic and dihydrolipoic acids as antioxidant: A critical evaluation. Free rad res. 1994; 20: 119-33.
125. Sexton W J, Jarrow JP. Effect of diabetes mellitus upon male reproductive function. Urology. 1997; 49: 508–513.
126. Shrilatha B, Muralidhara. Early oxidative stress in testis and epididymal sperm in streptozotocin-induced diabetic mice: Its progression and genotoxic consequences. Reprod Toxicol 2007; 23: 578-587.
127. Shrilatha B. Muralidhara. Occurrence of oxidative impairments, response of antioxidant defences and associated biochemical perturbations in male reproductive milieu in the Streptozotocin-diabetic rat. Int J Androl. 2007;30 (6): 508-18
128. Singh U, Jialal I. Alpha-lipoic acid supplementation and diabetes. Nutr Rev. 2008 Nov;66 (11):646-57.
129. Son SM. Role of vascular reactive oxygen species in development of vascular abnormalities in diabetes. Diabetes Res Clin Pract 2007; 77: 65-70.
130. Song KH et al, α-lipoic acid prevents diabetes mellitus in diabetes prone rats. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2005; 197-202.
131. Stefan Y, Malaisse-Lagae F, Yoon JW, Notkins AL, Orci L. Virus-induced diabetes in mice: a quantitative evaluation of islet cell population by immunofluorescence technique. Diabetologia. 1978;15 (5):395-401.
132. Suh JH, Shigeno ET, Morrow JD, Cox B, Rocha AE, Frei B et al, Oxidative stress in the aging rat heart is reversed by dietary supplementation with (R)- (alpha)-lipoic acid. The FASEB journal, 2001; 15: 700–706.
133. Şeftalioğlu A. Genel ve Özel İnsan Embriyolojisi.3.Baskı, Ankara, Tıp Ve Teknik Yayıncılık Ltd. Şti, 1998.
134. Taysi S, Polat F, Gül M, Sari RA, Bakan E . Lipid peroxidation, some extracellular antioxidants, and antioxidant enzymes in serum of patients with rheumatoid arthritis. Rheumatology international, 2002; 21 (5): 200-204.
135. Taylor SI, Accili D, Imai Y. Insulin resistance or insulin deficiency. Which is the primary cause of NIDDM? Diabetes. 1994;43 (6):735-40. Review.
136. Tuncer S. Deneysel Tip I Diyabetin Sıçan Periferik Sinirleri Üzerine Etkisinin Numerik Analiz Yöntemleri ile İncelenmesi. Konya Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Biyofizik Anabilim Dalı. Yüksek Lisans tezi.2008.

137. Türkoğlu Ç, Duman BS, Günay D. Tip 2 Diyabet Hastalarında Lipotoksisiteye Bağlı İnsülin Direncinin Acipimox'la Tedavisi. Diyabet Bilimi. 2003; 1 (3): 91-95.
138. Uchigata Y, Yamamoto H, Kawamura A, Okamoto H. Protection by superoxide dismutase, catalase, and poly (ADP-ribose) synthetase inhibitors against alloxan- and streptozotocin-induced islet DNA strand breaks and against the inhibition of proinsulin synthesis. J Biol Chem. 1982;257 (11):6084-8.
139. Uçkun A, Çalıkoğlu AS. Çocukluk Çağında Tip 2 Diyabet. 2003; Steed 12 (5): 174-193
140. Von Mering J, Minkowski O. Diabetes mellitus nach Pankreasextirpation. Arch. Exp. Pathol. Pharmakol. 1889;26, 371.
141. Walter RM, Uriu-Hare JY, Olin KL. Copper, Zinc, Manganese, Magnesium Status and Complications of Diabetes Mellitus. Diabetes Care. 1991; 14: 1050-1056.
142. White MF, Kahn CR. The insulin signaling system. Journal of Biological Chemistry. 1994.
143. Wilson GL, Patton NJ, McCord JM, Mullins DW, Mossman BT. Mechanisms of streptozotocin- and alloxan-induced damage in rat B cells. Diabetologia. 1984;27 (6):587-91.
144. William F.G. A Lange Medical Book. In: Doğan A. 16. baskı. Cerrah Paşa İstanbul. Barış Kitabevi. 1995.
145. Wolff SP. Diabetes mellitus and free radicals. Br Med Bull 1993; 49: 642-652.
146. Yedigün M. Diabetes Mellitus. İstanbul, Haseki Hastanesi Vakfı. 1995.
147. Yılmaz S, Üstündağ B . Streptozotosin ile diyabet oluşturulan Ratların karaciğer ve böbrek dokularında pirüvat kinaz aktivite düzeyleri. Turk J. vet. anim. Sci. 2002;26: 549-553.
148. Yki-Järvinen H. Role of insulin resistance in the pathogenesis of NIDDM. Diabetologia. 1995; 38 (12):1378-88. Review.
149. Young LD, Yu D, Bateman RM, Brock GB. Oxidative stress and antioxidant therapy: their impact in diabetes-associated erectile dysfunction. Journal of Andrology. 2004;25: 830–836
150. Ziegler D, Ametov A, Barinov A, Dyck PJ, Gurieva I, Low PA, et al. Oral treatment with alpha-lipoic acid improves symptomatic diabetic polyneuropathy: The SYDNEY 2 trial. Diabetes Care. 2006 Nov;29 (11):2365-70.
151. Zimmet P, Albert K, Shaw J, Global and societal implications of the diabetes epidemic. Nature (London). 2001; 414: 782-787
152. Zobalı F. Streptozotosin-diyabetik sıçanlarda oksidatif stres vevasküler reaktivite üzerine tek başına ve insülin ile kombine halde uygulananA vitamini tedavisinin etkileri. Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü. 2000.

10. ÖZGEÇMİŞ

İnci Kara 1984 yılında Muş'ta doğdu. Lise eğitimini Konya Selçuku Anadolu Lisesi'nde tamamladı. 2003 yılında Selçuk Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünü kazandı. 2007 yılında mezun oldu. 2007 yılında Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsünde Histoloji - Embriyoloji (Tıp) Ana Bilim Dalı'nda Yüksek Lisans eğitimine başladı. 2010 yılında Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Histoloji Embriyoloji Ana Bilim Dalında sağlık teknisyeni olarak çalışmaya başladı.