

T.C.
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**FARKLI TEDAVİ UYGULANAN DİYABETİK ERKEK SIÇANLARIN
TESTİSLERİNİN İMMÜNOHİSTOKİMYASAL VE BİYOKİMYASAL
PARAMETRELERİNİN İNCELENMESİ**

Sezgi AKBAL

Kocaeli Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetmeliğinin
Histoloji ve Embriyoloji Programı için Öngördüğü
BİLİM UZMANLIĞI (YÜKSEK LİSANS TEZİ)
Olarak Hazırlanmıştır

KOCAELİ
2019

T.C.
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

FARKLI TEDAVİ UYGULANAN DİYABETİK ERKEK SIÇANLARIN
TESTİSLERİNİN İMMUNOHİSTOKİMYASAL VE BİYOKİMYASAL
PARAMETRELERİNİN İNCELENMESİ

Sezgi AKBAL

Kocaeli Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetmeliğinin
Histoloji ve Embriyoloji Programı İçin Öngördüğü
BİLİM UZMANLIĞI TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır

Danışman: Prof. Dr. Melda YARDIMOĞLU YILMAZ

Bu Tez Çalışması Kocaeli Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi
Tarafından Desteklenmiştir

Proje Numarası: KOÜ BAP 2017/092

Etik Kurul Onay Numarası: KOÜ HADYEK 6/3 - 2017

KOCAELİ

2019

KABUL ONAY

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ'NE

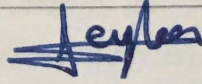
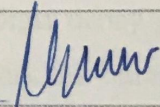
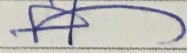
Tez Adı: “Farklı tedavi uygulanan diyabetik erkek sıçanların testislerinin immunohistokimyasal ve biyokimyasal parametrelerinin incelenmesi”

Tez yazarı: Sezgi AKBAL

Tez savunma tarihi: 01/06 /2019

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Melda YARDIMOĞLU YILMAZ

Bu çalışma, sınav kurulumuz tarafından Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalında BİLİM UZMANLIĞI olarak kabul edilmiştir.

SINAV KURUL ÜYELERİ		İMZA
ÜNVANI	ADI SOYADI	
ANABİLİM DALI BAŞKANI	Prof. Dr. Süreyya CEYLAN	
DANIŞMAN	Prof.Dr.Melda YARDIMOĞLU YILMAZ	
ÜYE	Doç. Dr. Ünal USLU	
YEDEK ÜYE		
YEDEK ÜYE		

Onay

Yukarıdaki imzaların, adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

/ /2019

Prof. Dr. Sema KEÇELİ

KOÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ÖZET

Farklı Tedavi Uygulanan Diyabetik Erkek Sıçanların Testislerinin İmmünohistokimyasal ve Biyokimyasal Parametrelerinin İncelenmesi

Amaç: Amacımız, deneysel diyabet oluşturduğumuz sıçan testislerinde oluşan hasara karşı atorvastatin (ATO) ve tarçın (Tar) tedavilerinin olası koruyucu etkilerini histolojik ve biyokimyasal olarak değerlendirmektir.

Yöntem: Hayvanlar; 4 kontrol (K), 1 diyabet (DM) ve 3 tedavi grubunda 8 alt gruba ayrıldı. Diyabetik deney modeli oluşturmak için erişkin erkek Wistar albino sıçanlara Streptozotosin (STZ) uygulandı. 10 hafta süreyle ATO-K, DM+ATO, DM+ATO+Tar grupları ATO ile tedavi edildi ve Tar-K, DM+Tar, DM+ATO+Tar gruplarına tarçın özsuğu verildi. Hayvanlar, 70. günde sakrifiye edildi. Kan ve testis dokusunda biyokimyasal analizler ile testis kesitlerinde ışık mikroskopik yöntemlerle histolojik incelemeler yapıldı. Elde edilen veriler istatistiksel olarak değerlendirildi ($p<0.05$).

Bulgular: Kontrol grupları ile diğer gruplar arasında kan glikoz seviyeleri açısından anlamlı bir farklılık vardı. DM + Tar grubunda kan şekeri düzeyinin en düşük olduğu bulundu, ancak istatistiksel olarak anlamlı değildi. En düşük vücut ağırlıkları DM grubundaydı. DM grubunda testis ağırlıkları diğer gruplara göre düşüktü, ancak fark anlamlı değildi. En düşük total kolesterol seviyesi kontrol gruplarında gözlemlendi. En yüksek serum MDA düzeyleri, Tar-K ve DM gruplarındaydı. Testis dokusu MDA düzeyi açısından DM grubu ile diğer deney grupları arasında, ve ATO-K grubu ile diğer kontrol grupları arasında anlamlı bir farklılık bulundu. En yüksek doku MDA düzeyleri DM ve ATO-K gruplarında idi. Doku GSH düzeyleri açısından ATO-K grubu ile diğer gruplar arasında anlamlı bir farklılık vardı ($p<0.05$). Işık mikroskopu sonuçları olarak; H&E ile boyanmış testis kesitlerinde en düşük çapta seminifer tübüller DM grubunda, en yüksek çapta tübüllere ise Tar-K grubunda rastlandı. Keza Johsen skorlamasına göre en yüksek skor Doğal-K, en düşük skor ise DM grubunda gözlemlendi. TUNEL uygulanan kesitlerde en yüksek apoptotik indeks DM grubunda, en düşük apoptotik indeks ise ATO-K grubunda saptandı.

Sonuç: Histolojik ve biyokimyasal parametreler açısından DM grubu ile tedavi grupları karşılaştırıldığı zaman bu tedavilerin diyabetin komplikasyonlarına karşı iyileşmelere yol açabileceği sonucuna vardık.

Anahtar kelimeler: Diabetes Mellitus, Tarçın, Atorvastatin, Testis, Streptozotosin, Testosteron, Kolesterol, Toplam Oksidan Seviyesi, Toplam Antioksidan Seviyesi, Apoptoz

İNGİLİZCE ÖZET

Investigation of Immunohistochemical and Biochemical Parameters of Testes of Diabetic Male Rats Treated with Different Therapies

Objective: Our purpose was to evaluate the possible protective effects of atorvastatin (ATO) and cinnamon (Cin) treatments histologically and biochemically in rat testes against the damages caused by experimental diabetes.

Method: Animals were divided into 8 subgroups as 4 control (C), 1 diabetes (DM) and 3 treatment groups. Streptozotocin (STZ) was applied to adult male Wistar albino rats to form a diabetic rat model. ATO-C, DM+ATO, DM+ATO+Cin groups were treated with ATO (20mg/kg), and Cin-C, DM+Cin, DM+ATO+Cin groups were given cinnamon extract for 10 weeks. Animals were sacrificed on the 70th day, biochemical analyzes were performed on blood and testis tissues and histological examinations were performed in testis sections by light microscopic methods. The data were evaluated statistically ($p < 0.05$).

Results: There was a significant difference between the control groups and other groups in terms of blood glucose levels ($p < 0.05$). Lowest blood glucose level was found in DM+Cin group however it was not statistically significant. The lowest body weights were in the DM group. Testicular weights were lower in DM group compared to other groups but difference was not significant. The lowest total cholesterol level was observed in the control group. The highest serum MDA levels were in the Cin-C and DM groups. There were significant differences in terms of testicular tissue MDA levels between DM group and the other experimental groups, and ATO-C group and other control groups. Highest tissue MDA levels were determined in DM and ATO-C groups. There was a significant difference between ATO-C group and other groups in terms of tissue GSH levels ($p < 0.05$). As the results of light microscopy, in H&E stained testis sections the lowest diameter seminiferous tubules were found in the DM group while the highest diameter tubules in the Cin-C group. Likewise, according to Johnsen scoring, the highest score was in Naive-C and the lowest score in DM group. The highest apoptotic index was found in the DM group and the lowest apoptotic index in the ATO-C group in TUNEL stained testis sections.

Conclusions: When comparing the DM group and treatment groups in terms of histological and biochemical parameters, we concluded that these therapies can lead to improvements in the complications of diabetes

Keywords: Diabetes Mellitus, Cinnamon, Atorvastatin, Testis, Streptozotocin, Testosterone, Total Cholesterol, Total Oxidant Status, Total Antioxidant Status, Apoptosis

TEŞEKKÜR

Tezimin planlanması ve gerçekleştirilmesinde, beni yönlendiren, fikir ve bilgisini paylaşan, zamanını vererek tezin oluşumunda yardımlarını esirgemeyen değerli hocam Prof. Dr. Melda YARDIMOĞLU YILMAZ' a,

Eğitimim boyunca destek, deneyim ve bilgi birikimlerini paylaşan Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı öğretim üyeleri değerli hocalarım; Prof. Dr. Süreyya Ceylan, Prof. Dr. Süheyla Gonca, Prof. Dr. Yusufhan Yazır ve Prof. Dr. Serdar Filiz' e,

Çalışmalarım sırasında yardımını esirgemeyen, tezimle ilgili her türlü sorunda içtenliğiyle öneri ve desteğini veren, yüksek lisans eğitimim boyunca her türlü konuda yanımda olan çok değerli arkadaşlarım Dr. Sema Kurnaz, Uzm. Bio. Selenay Furat Rençber, Uzm. Bio. Kübra Kavram Sarıhan' a,

Hiçbir fedakarlıktan kaçınmayan, sonsuz sevgi ve desteklerini her zaman yanımda hissettiğim ailem ve yakınlarıma

TEŞEKKÜR EDERİM

TEZİN AŞIRMA OLMADIĞI BİLDİRİSİ

Tezimde başka kaynaklardan yararlanılarak kullanılan yazı, bilgi, çizim, çizelge ve diğer malzemeler kaynakları gösterilerek verilmiştir. Tezimin herhangi bir yayından kısmen ya da tamamen aşırma olmadığını ve bir İntihal Programı kullanılarak test edildiğini beyan ederim.

31/05/2019

Sezgi AKBAL
İmza

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

ÖZET.....	iv
İNGİLİZCE ÖZET.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
TEZİN AŞIRMA OLMADIĞI BİLDİRİSİ.....	vii
İÇİNDEKİLER DİZİNİ.....	viii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	x
ÇİZİMLER DİZİNİ.....	xii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xiii
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Giriş.....	1
1.2. Diabetes Mellitus.....	2
1.2.1. Tanı ve Sınıflama.....	2
1.2.2. Diyabetin Genel Komplikasyonları.....	4
1.2.3. Diabetes Mellitus ve Erkek İnfertilitesi İlişkisi.....	6
1.2.4. Testis Histolojisi.....	7
1.2.5. Testis Embriyolojisi.....	17
1.2.6. Atorvastatin.....	19
1.2.7. Tarçın.....	21
1.2.8. Streptozotosin.....	24
1.2.9. Apoptozis.....	25
2. AMAÇ.....	28
3. YÖNTEM.....	30
3.1. Deneysel çalışma Aşamaları.....	30
3.1.1. Deney Hayvanları.....	30
3.1.2. Labortuvar Koşulları.....	30
3.1.3. Deneysel Çalışma Planı.....	30
3.1.4. Sıçanların Vücut Ağırlıklarının Ölçülmesi.....	32
3.1.5. Glikoz Düzeylerinin Ölçülmesi.....	32
3.1.6. Dokuların Alınması.....	32
3.1.7. Testis Ağırlıklarının Ölçümü.....	32
3.1.8. Biyokimyasal Analizler.....	32
3.1.9. Işık Mikroskopik Çalışmalar.....	38
3.1.10. Bouin Fiksatifinin Hazırlanışı.....	39
3.1.11. Doku Takibi.....	39
3.1.12. Kesitlerin Alınması.....	39
3.1.13. Hemotoksilen - Eozin (H&E) Boyama Yöntemi.....	40
3.1.14. TUNEL Metodu.....	42
3.1.15. Apoptotik İndeksin (AI) Hesaplanması.....	43
3.1.16. İstatistiksel Analizler.....	43
4. BULGULAR.....	44
4.1. Vücut Ağırlıklarının Zamana Bağlı Değişimi.....	44
4.2. Atorvastatin, Tarçın ve Kombine Tedavinin Glikoz Seviyeleri Üzerine Etkisi.....	46
4.3. Biyokimyasal Parametreler.....	48
4.4. Işık Mikroskopik Bulgular.....	52
4.4.1. Hemotoksilen - Eozin (H&E) Boyaması Bulguları.....	52
4.4.2. TUNEL Tekniği ile Apoptotik Hücrelerin İncelemesi.....	57
5. TARTIŞMA.....	60
6. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	68
7. KAYNAKLAR DİZİNİ.....	70

ÖZGEÇMİŞ.....	88
EKLER.....	90
Etik Kurul Onayı: 22 Haziran 2017.....	90
Tez Denetleme Listesi.....	91



SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

ABP: Androjen-Bağlayıcı Protein

Aİ: Apoptotik İndeks

ATO: Atorvastatin

BSA: Bovin Serum Albumin

DM: Diabetes Mellitus

DNA: Deoksiribonükleik asit

ELISA: Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay

FSH: Folikül Uyarıcı Hormon

GSH: Glutasyon

H₂O₂: Hidrojen Peroksit

hCG: İnsan Koryon Gonadotropin Hormon

HDL: High-Density Lipoprotein

H&E: Hematoksilen–Eozin

HNF1: Hepatik Nükleer Faktör 1

HNF3: Hepatik Nükleer Faktör 3

HNF4: Hepatik Nükleer Faktör 4

IDDM: İnsüline Bağlı Diyabet (Insulin-Dependent Diabetes Mellitus)

IL: İnterlökin

i.p.: İntraperitoneal Enjeksiyon

IPF-1: Insulin Promotor Co-Factor 1

LDL: Low-Density Lipoprotein (Düşük Yoğunluklu Lipoprotein)

LH: Lüteinleştirici Hormon

MDA: Malondialdehit

NIDDM: İnsüline Bağlı Olmayan Diyabet (Non-Insulin-Dependent Diabetes Mellitus)

OSI: Oksidatif Stres İndeksi

PGH: Primordiyal Germ Hücreleri

ROM: Reaktif Oksijen Metabolitleri

ROS: Reaktif Oksijen Süpürücüler

SF: Serum Fizyolojik

SOA: Serum Oksidasyon Aktivitesi

STZ: Streptozotosin

TAA: Toplam Antioksidan Aktivite

TAC: Toplam Antioksidan Kapasite

TAOP: Toplam Antioksidan Güç

Tar: Tarçın

TAS: Total Antioksidan Seviyesi

TNF: Tümör Nekrozis Faktör

T1DM: Tip 1 diyabet

T2DM: Tip 2 diyabet

TOS: Total Oksidan Seviyesi

TP: Toplam Peroksid

TUNEL: Terminal Deoksinükleotidil-Transferaz Aracılı dUTP Nick Ucu Etiketlemesi

VLDL: Very Low-Density Lipoprotein

µm: Mikrometre

µl: Mikrolitre

ÇİZİMLER DİZİNİ

Çizim 1. 1. Erkek Genital Sistemi.....	8
Çizim 1. 2. Testisin Histolojik Yapısı	9
Çizim 1. 3. Seminifer Tübülde Spermatogenik Hücre Katmanlar.....	12
Çizim 1. 4. Seminifer tübül kesitinde spermatogenik hücreler.....	13
Çizim 1. 5. Spermatogenezin aşamaları.....	16
Çizim 1. 6. Atorvastatin'in kimyasal formülü.....	200
Çizim 1. 7. Streptozotosin' in kimyasal yapısı	244
Çizim 1. 8. Apoptotik ölüm yolları	2626
Çizim 4. 1. Deney boyunca kontrol ve deney grubu sıçanların vücut ağırlıklarında gözlenen zamana bağlı değişimin grafiği (g).....	46
Çizim 4. 2. Kontrol ve deney grubu sıçanlarının deney süresince yapılan kan şekeri ölçümlerinin gruplar arası karşılaştırıldığı grafik.....	47
Çizim 4. 3. Deney sonunda sakrifiye edilen hayvanların testis ağırlık ortalamalarının gruplar arası karşılaştırması ($X \pm SS$) (mg).....	48
Çizim 4. 4. Kontrol ve deney grubu sıçanlarının gruplar arası testosteron düzeylerinin karşılaştırılması. (nmol/L).....	49
Çizim 4. 5. Kontrol ve deney grubu sıçanların gruplar arası total kolesterol düzeyleri karşılaştırılması.(nmol/L).....	49
Çizim 4. 6. Kontrol ve deney grubu sıçanların gruplar arası TAS, TOS düzeylerinin karşılaştırılması (TAS mmol/L, TOS μ mol/L).....	50
Çizim 4. 7. Kontrol ve deney grubu sıçanların gruplar arası OSI düzeylerinin karşılaştırılması.....	500
Çizim 4. 8. Kontrol ve deney grubu sıçanların gruplar arası serum MDA düzeyleri karşılaştırılması (mol/L).....	511
Çizim 4. 9. Kontrol ve deney grubu sıçanların gruplar arası testis dokusu MDA düzeyleri karşılaştırılması (mol/g).....	511
Çizim 4. 10. Kontrol ve deney grubu sıçanların testis dokusu GSH düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması (mM).....	522
Çizim 4. 11. Kontrol grupları(A: Doğal-K, B: Sitrat Tamponu-K, C: Tar-K, D: ATO-K)'na ait testis kesitlerinin ışık fotomikrografları. H&E, 200X.....	533
Çizim 4. 12. Kontrol grupları (A: Doğal-k, B: Sitrat Tamponu-K, C: Tar-K, D: ATO-K)'na ait testis kesitlerinin ışık fotomikrografları.H&E, 400X.....	533
Çizim 4. 13. Deney grupları(A: DM, B: DM+Tar, C: DM+ATO, D: DM+ATO+Tar)'na ait testis kesitlerinin ışık fotomikrografları. H&E, 200X.....	544
Çizim 4. 14. Deney grupları (A: DM, B: DM+Tar, C: DM+ATO, D: DM+ATO+Tar)'na ait testis kesitlerinin ışık fotomikrografları. H&E, 400X.....	555
Çizim 4. 15. Kontrol ve deney grubu sıçanların seminifer tübül çaplarının gruplar arası ölçümlerinin karşılaştırması (μ m).....	56
Çizim 4. 16. Kontrol grupları (A: Doğal-k, B:Sitrat Tamponu k, C:Tar-K, D:ATO-K)'na ait testis kesitlerinin ışık fotomikrografları.TUNEL, 400X.....	58
Çizim 4. 17. Deney grupları (A: DM; B:DM-Tar; C:DM-ATO; D: DM-ATO-TAR)'na ait testis kesitlerinin ışık fotomikrografları. TUNEL, 400X.....	59

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3. 1. Deney öncesi sıçan gruplarının düzenlenmesi ve ortalama vücut ağırlıkları ($X \pm SS$).....	311
Çizelge 4. 1. Deney boyunca sakrifiye edilmeden önce sıçanların vücut ağırlıkları ve standart sapmaları, $X \pm SS$).....	455
Çizelge 4. 2. Kontrol ve deney grubu sıçanlarının deney öncesi, STZ enjeksiyonundan 1 hafta, 5 hafta ve 10 hafta sonra kan şekeri ölçümleri ($X \pm SS$) (mg/dL).....	47
Çizelge 4.3. Kontrol ve deney gruplarına ait seminifer tübüllerin Johnsen skorlaması.....	56
Çizelge 4. 4. Kontrol ve deney gruplarına ait kesitlerde normal ve apoptotik hücre sayıları ile Apoptotik İndeks(Aİ)'leri.....	58



1. GİRİŞ

1.1. Giriş

Diabetes Mellitus (DM), insülinin yokluğu veya insülin etkisindeki eksiklik nedeniyle oluşan hiperglisemi durumudur; kronik metabolik bir hastalıktır (Avcı 2001). İnsülinin tip I diyabet dolayısıyla geliştireceği olası komplikasyonlar, organ ve organ işlevi kayıplarına yol açabilir, yaşam kalitesini ve süresini olumsuz etkileyebilir. İnsülinin salınımı ve fonksiyonlarının azalması veya bozulması sonucu yağ, protein ve karbonhidrat metabolizmasında bozulmalar gözlemlenir. Bu bozukluklar ile güçsüzlük, poliüri, polidipsi vs. akut rahatsızlıklarda veya retinopati, nefropati, nöropati vs. kronik rahatsızlıklarda artış izlenir (Rodrigues ve diğ. 1999). Diyabetin incelendiği çalışmalarda hipergliseminin doğrudan veya dolaylı olarak serbest radikal oluşumunda artışa ve oksidatif strese neden olduğu izlenmiştir (Liptakova ve diğ. 2002, Agardh ve diğ. 2002). Oksidatif stresteki artış ile antioksidan kapasitesi değişimleri kronik diyabetin patogeneğinde önemlidir (Baynes ve diğ. 1999, Armağan ve diğ. 2006). Diyabette üretimi artan NO (azot oksit veya nitrit oksit) molekülü, diğer oksidanlarla beraber oksitlenmiş ve nitratlanmış ara ürünler oluşturarak ve bazı enzimleri inhibe ederek inflamasyon ve doku hasarına yol açabilmekte, toksik peroksinitrit radikallerinin oluşumuna neden olarak hücreleri apoptoz ve nekroza yönlendirebilmektedir (Nilsson 1999, Eiserich 1998).

Çalışmalar; diyabet hastalarında spermatogenez işleyişinde bozukluklar, sperm sayısı, hareket ve seminal sıvı miktarında azalmalar, testosteron seviyesi düşüşü gibi değişikliklerin geliştiğini göstermiştir (Amaral ve diğ. 2008). Ayrıca diyabete bağlı olarak tunika albuginea, testisler, interstisyel bağ doku, Leydig hücreleri ve seminifer tübüllerde histolojik değişikliklerin gerçekleştiği gösterilmiştir (Altay 2003, Seethalakshmi 1987, Cameron 1985). Diyabet için yeni ilaçlar, ilaç uygulama yöntemleri ve tedavi teknikleri (örneğin: adacık transplantasyonu) geliştirilmekte, diyabetten korunabilmek için insülin kodlayan genler üzerinde çalışmalar gerçekleştirilmektedir (Bailey 2000, Corbett 2001). Ancak diyabetin hastalar üzerinde geliştirdiği komplikasyonların niteliği tam olarak anlaşılammıştır. Diyabetik erkek ve kadın bireylerde gözlenen impotensin işleyişi hala tam olarak aydınlatılamamıştır.

Dünya nüfusunun ortalama %8' i diyabetten etkilenmektedir. Günümüzde yaklaşık olarak 390 milyonluk bir nüfusa sahip olan diyabet hastalarının sayısının 2035 yılında 592

milyona yükseleceği öngörülmektedir. (Uluslararası Diyabet Federasyonu (IDF), 2015). Türkiye’ de diyabetik sayısının 2035 yılında 12 milyona ulaşacağı öngörülmektedir. (Türkiye Diyabet Vakfı, 2015). DM’ nin dolaylı veya direkt komplikasyonları nedeniyle dünya çapında ölümler meydana gelmektedir. Diyabetin insidansı her yıl artış göstermektedir.

1.2. Diabetes Mellitus

Diabetes Mellitus (DM), pankreastan salgılanan ve kan şekerini düzenleyen insülin hormonunun üretim yetersizliği veya işlev kaybı sonucu karbonhidrat, protein ve yağ metabolizmasındaki bozukluklara bağlı olarak kronik hiperglisemi, dislipidemi, glikozüri ve bunlara benzer birçok biyokimyasal ve klinik bulgularla seyreden metabolik endokrin bir hastalıktır. Diyabette insülin yetersizliği sonucu hücrelerin glikozu kullanamamasına bağlı olarak kandaki glikoz seviyesinin 300 mg’ nin üstünde değerlere yükselmesi durumuna verilen isim olan hiperglisemiye bağlı olarak lme yol açan akut komplikasyonlar ya da uzun dönemde hayat kalitesinde düşüşe neden olan kalıcı hasarlar bırakan kronik komplikasyonlar gözlemlenmektedir. Doku proteinlerinin azalması ve bozulan yağ metabolizmasına bağlı olarak damar duvarlarında biriken lipid etkisiyle gelişen ateroskleroz durumu da diyabetin spesifik bulgularındandır. Hiperglisemiye bağlı olarak diyabet, uzun vadede kronik komplikasyonları nedeniyle dolaşım ve sinir sistemlerinde, böbrek, kalp, damar ve göz gibi organlarda kalıcı hasarlara yol açan morbitide ve erken ölüm gibi riskleri olan bir hastalıktır (Ilokova 1997). Bu doku ve organ hasarları, diyabetle direkt olarak ilişkili spesifik komplikasyonlardandır (American Diabetes Association 2001, Maiti ve diğ. 2004, Morris ve diğ. 1994).

Diyabette en sık karşılaşılan belirtiler; polidipsi(ok su içme), ağız kuruluğu, poliüri(sık idrara çıkma), açlık hissi, iştah artışı, noktüri(gece idrar apma ihtiyaı ile bir ya da daha fazla uyanma durumu (Türk roloji Derneği)), halsizlik; daha az rastlanan belirtiler ise; bulanık görme ve görüş kaybı, kilo kaybı, yara ve kesiklerde iyileşme problemi, pıhtılaşma problemleri, inatçı enfeksiyonlar, mantar enfeksiyonları, kaşıntı ve deri döküntüsüdür (İmamoğlu ve diğ. 1995).

1.2.1. Tanı ve Sınıflama

DM genel olarak İnsüline Bağlı Diyabet (İnsulin-Dependent Diabetes Mellitus/IDDM veya Tip I Diyabet/T1DM) ve İnsüline Bağlı Olmayan Diyabet (Non-Insulin-Dependent

Diabetes Mellitus/NIDDM veya Tip II Diyabet/T2DM) olarak iki ana grupta incelenmektedir. Bu terimler genelde birbirine karıştırılmaktadır. Tip I ve Tip II diyabet terimleri, DM' nin en yaygın iki formudur. Bir diğer diyabet grubu ise özel spesifik durumlarla ve sendromlarla ilişkili, daha az rastlanan tiplerini kapsamaktadır (Kahn ve diğ. 2008, Poretsky 1997).

A) Tip I Diyabet

Tip I, tüm diyabetik vakaların yaklaşık %10' unu oluşturmaktadır. İnsülin salgılanmasında belirgin bir azalma dolayısıyla oluşan diyabet türüdür. T lenfositlerin aktivasyonu ile β hücrelerinin yıkımı, insülin salgı yokluğu ya da azlığı, C-peptid cevabının yoksunluğu nedeniyle insülin yetmezliği oluşur. Hayatta kalabilmek için insülin takviyesine ihtiyaç vardır. "Jüvenil diyabet", "genç tipi şeker hastalığı" veya "ketoza elverişli diyabet" gibi isimlerle de bilinir. Genelde erken yaşlarda (11-13) başlar. İnsülin eksikliğinin şiddeti, hastalığın ortaya çıkış hızını ve şiddetini belirler. Kanda artan glikoz böbreklerden emilememeye başlayarak idrarla vücuttan atılır; bu şekilde idrar testlerinde de diyabet tespiti yapılabilir (Blasiak ve diğ. 2004, Bağrıaçık 1999).

Tip I diyabete sitolitik etkileri olan viral enfeksiyonlar da neden olabilmektedir. Bu virüsler, pankreastaki β -hücrelerine saldırır veya β -hücrelerine karşı otoimmün saldırıyı tetikleyerek Tip I diyabete sebebiyet verebilmektedirler(Scobie 2007).

B) Tip II Diyabet

Diyabetin en sık karşılaşılan formudur. Erken dönemde insülin takviyesine ihtiyaç duyulmadan kontrol edilebilir. İnsülin sekresyonu ya da etkinliğindeki bozukluktan kaynaklanır. Bu hastalarda göreceli olarak insülin yetersizliğindense insülin fazlalığına ve insülin direncine rastlanmaktadır. Orta ve ileri yaş grubunda çıkması daha olasıdır. Tip II diyabet kolaylıkla tespit edilemeyebilir, klinik bulgu vermesi için yıllar geçmesi gerekebilir. Diyabet ortaya çıktığında hastalar genelde obezdirler. Yaş, obezite, fiziksel hareketsizlik gibi etmenlerle Tip II diyabet riski artış gösterir (Scobie 2007, Kahn ve diğ. 2008).

İnsülin direncine sahip olan bu hastalarda insülin seviyesi normal ya da yüksek oranda bulunurken kan glikoz seviyesi referans aralıkta tutulamayabilmektedir. Tüm diyabet vakalarının yaklaşık %80' ini tip II diyabet oluşturmaktadır; toplumun ortalama %4' ünde diyabetin bu formuna rastlanmaktadır (Özata ve diğ. 2006).

C) Diyabetin Diğer Tipleri

Diyabetin diğer tipleri farklı özelliklerine ve altta yatan sebeplerine göre tanımlanırlar. Diğer tipler arasında en sık karşılaşılan diyabet, gebelik sırasında tespit edilen değişik seviyelerde hiperglisemiyle karakterize karbonhidrat intoleransına neden olan Gestasyonel Diabetes Mellitus (GDM)' dur. Tekrarlayan gebeliklerde bu diyabet tipinin gelişme ihtimali artar (Poretsky 1997).

Farklı etyolojiye sahip olan sendromlar ve hastalıklarla beraber etkisi ortaya çıkan diyabetin başka formları da mevcuttur. Genelde β hücrelerindeki genetik bozukluklara bağlı olarak fonksiyon problemleri ile erken yaşlarda ortaya çıkan hiperglisemi ve dominant kalıtım özellikleriyle spesifiktirler. Bu tip diyabete sahip hastaların β hücrelerinde *Hepatik Nükleer Faktör (HNF)4 α* , *Glukokinaz*, *HNF1*, *HNF3* ve *Insulin Promotor Co-Factor 1 (IPF-1)* gibi genlerde genetik bozukluklar gözlemlenmiştir. İnsülin fonksiyonu normal ancak salgısında bozukluk mevcuttur. Ayrıca, β -hücrelerinin nükleer DNA' sında olabildiği gibi mitokondrial DNA' larında gerçekleşebilen mutasyonlar da buna benzer diyabet tipleri ortaya çıkarabilmektedir. Bunun dışında; Down sendromu, Huntington Hastalığı, Klinefelter, Turner sendromu gibi genetik sendromlar; Pankreatit, Kistik Fibröz gibi ekzokrin pankreas hastalıkları; Feniton, Pentamidin, Glikokortikotteroid gibi ilaç ve kimyasal kaynaklı durumlar; Cushing sendromu, Hipertiroidizm, Akromegali gibi endokrin hastalıkları ile birlikte de bu tip diyabet beraber izlenebilir (Scobie 2007, Kahn ve diğ. 2008).

1.2.2. Diyabetin Genel Komplikasyonları

Tip I veya Tip II fark etmeksizin her tip diyabette kronik ve akut olmak üzere bazı komplikasyonlar meydana gelmektedir. Diyabette en sık karşılaşılan akut dönem komplikasyonları hipoglisemi ve hiperglisemi ile bu ataklara bağlı olarak gerçekleşen koma durumlarıdır. Akut hipoglisemi atağında otonomik sendromlar (terleme, çarpıntı, açlık, titreme, el ve ayaklarda üşüme gibi) veya nöroglikopenik sendromlar (konsantrasyon ve koordinasyon zorluğu gibi) meydana gelmektedir (Scobie 1998).

1.2.2.1. Akut komplikasyonlar: Aniden gerçekleşen, hayati tehlikesi bulunan, mental ve fiziksel problemlere yol açabilen ve acil müdahale gerektiren durumlardır.

A) Hiperglisemik Atak/Hiperglisemi Koması: Kandaki glikoz seviyesinin aniden referans aralığın çok üzerine pik yapmasıdır. Poliüri, polidipsi ve polifaji beraber izlenir. Bu atağın sebepleri arasında, insülin veya antidiyabetik ilaçların aksatılması, dozunun yanlışlıkla düşük tutulması, glisemik indeksi yüksek olan besinlerin fazla miktarda ve bir anda tüketilmesi, düşük fiziksel aktivite, bazı hastalık ve enfeksiyonlar, fiziksel veya duygusal stres sayılabilir (Olgun 2002, Leong ve diğ 2001)

B) Hiperglisemik Ketoasidoz: İnsülin ve insülin karşıtı hormonların arasındaki dengenin insülin zararına bozulması durumunda oluşan; dehidratasyon semptom ve bulgularıyla fark edilebilen, tam koma gibi ciddi sonuçlara yol açabilen metabolik bir komplikasyondur (Yılmaz ve diğ. 2000, Ligtenberg ve diğ. 1998).

C) Hipoglisemik Atak/Hipoglisemi Koması: İnsülin tedavisi gören diyabetik bir hastanın yüksek doz insülin alması, aşırı fiziksel aktivitede bulunması, öğün geciktirmesi gibi durumlarda kan şekeri seviyesinin normalin çok altına düşmesi ile gerçekleşen durumdur. Merkezi sinir sistemi semptomları -baş ağrısı, konuşma zorluğu, zihin bulanıklığı gibi durumlar gözlenir. Müdahale edilmezse bilinç kaybı ve koma durumuna neden olabilir (Satman ve diğ. 2009, Robins 1995, Karşıdağ ve diğ. 2001).

1.2.2.3. Kronik komplikasyonlar: Diyabetin, çeşitli sistem, doku ve organlarda oluşturduğu hasarlara DM' nin kronik komplikasyonları adı verilmektedir. Diyabet ilerledikçe bu etkiler ortaya çıkmakta, morbidite ve mortaliteye neden olabilmektedirler (Özdemir 2012). Diyabetik retinopati ve nefropati gibi mikrovasküler komplikasyonlar; ateroskleroz, hipertansiyon, iskemik kalp hastalığı, miyokard infarktüsü, iskemik felç gibi makrovasküler komplikasyonlar, diyabetik nöropati vb. ciddi hastalıklara rastlanmaktadır.

A) Diyabetik Nefropati: Diyabetik hastalarda sıklıkla rastlanılan böbrek yetmezliğinin temel sebebidir. Çoğunlukla diyabet teşhisi konulan hastalarda 10 yıl içerisinde ciddi oranda renal hasar gözlenir. Diyabetik hastaların bilinçlenmesi, glisemik kontrolün geliştirilmesi ile son yıllarda renal hasar insidansında azalma saptanmıştır (Ritz ve diğ. 1999)

B) Diyabetik Retinopati: Hiperglisemi veya insülin yetersizliğine bağlı olarak ortaya çıkan bir mikroanjiopati tablosudur. Gelişmiş ülkelerde, 20 ila 74 yaş arası görülen körlüklerin en büyük sebebi diyabetik retinopatidir. Tip I diyabette görülme ihtimali, Tip II

diyabette görülme ihtimalinden daha yüksektir. Diyabetik olarak geçirilen her yıl diyabetik retinopatinin oluşma ihtimalini artırır(Klein ve diğ. 1992, Damcı 2000). Lipid düzeyi yüksek olan hastalar, yüksek risk grubundadır (Satman ve diğ. 2009).

C) **Diyabetik Nöropati:** Diyabette en sık rastlanılan komplikasyonlardan biri de nöropatidir. Diyabet tanısı konulan hastaların yaklaşık %10' unda nöropati vardır. Diyabet yaşı arttıkça, nöropati bulunma oranı da artmaktadır. Genetik yatkınlık, cinsiyet, bölge, ırk ve yaş gibi değişkenler, nöropatinin meydana çıkmasını ve ilerlemesini etkileyebilmektedir (Bağrıaçık 1997).

Diyabetik nöropatide, Schwann hücrelerinin fonksiyonlarındaki değişime bağlı olarak sinir iletiminde yavaşlama sonucu segmental demiyelinizasyon ve akson dejenerasyonu gözlenir. Çok sık rastlanılan bir diyabet komplikasyonudur. Hastalar genelde idrar retansiyonu, kabızlık veya ishal ile seksüel impotans şikayetlerine sahiptirler (Myers 1998, Robins 1995).

1.2.3. Diabetes Mellitus ve Erkek İnfertilitesi İlişkisi

Son yıllarda yapılan çalışmalara göre erkek infertilitesinde artış gözlenmektedir. Erkek infertilitesi, bir çok farklı sebebe dayanabilmektedir. Genelde, geçirilen enfeksiyonlar, hormonal bozukluklar, böbrek yetmezliği, diyabet gibi metabolik problemler; inmemiş testis gibi patolojik durumla çevreden bağımsız olarak erkek infertilitesine sebep olmaktadır. Bunun dışında kullanılan ilaçlar, alkol ve sigara tüketimi, radyasyon, yüksek sıcaklık, darbe gibi dış etmenlerin de erkeklerde fertilitate azalmasına neden olduğu bilinmektedir (Ramlau-Hansen ve diğ. 2007, Kort ve diğ. 2006).

Kanda yükselen glikoz seviyesi üreme yeteneğini, küçük ve büyük damarlara ve sinirlere zarar vererek engeller. Bu hasar hangi organdaysa, o organın fonksiyonunda problemlerin ortaya çıkması kaçınılmaz olur. Diyabet, erkek infertilitesine doğrudan ya da dolaylı olarak etki eder. Kandaki yüksek glikoz seviyesi, testislerde üretilen spermilerin döllenmeyi engelleyecek kusurlara sahip olmasına neden olur. Spermatogenezin normal prosedürü, diyabet tarafından sekteye uğratılabilir (Benitez ve diğ. 1985, Sanguinetti ve diğ. 1995).

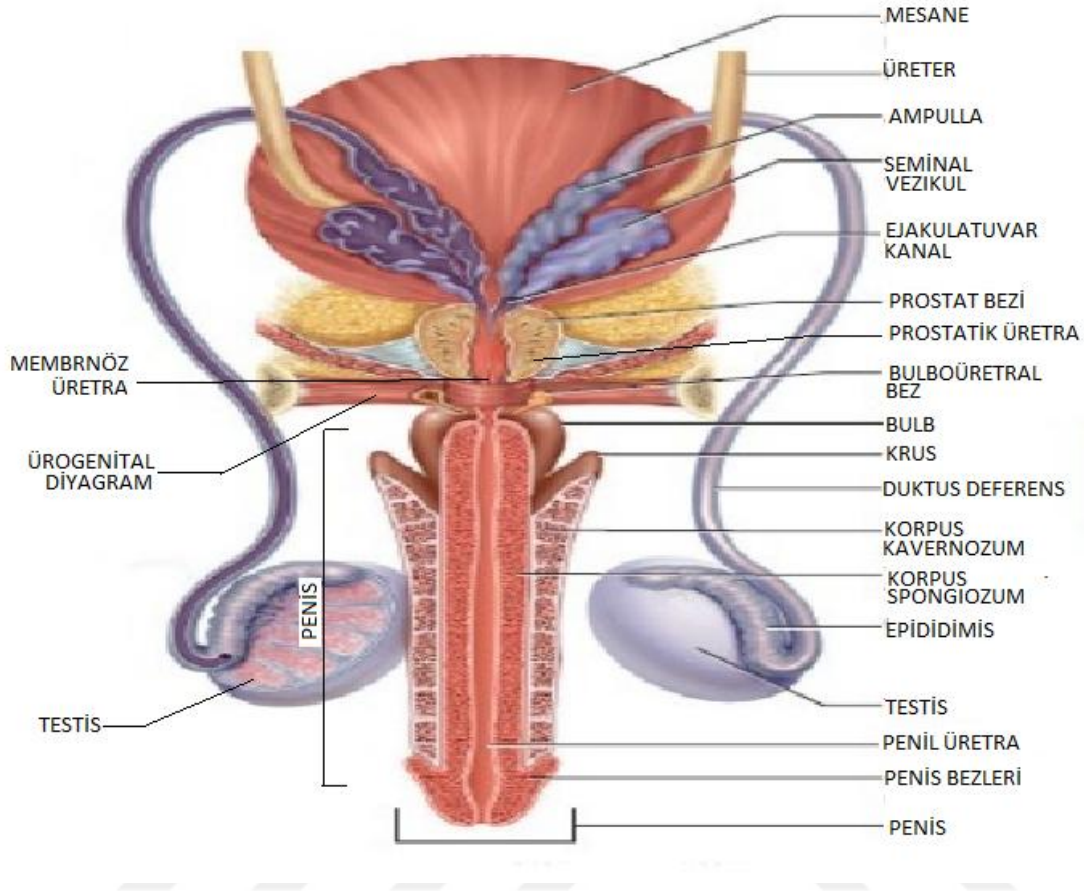
Diyabet, insanlarda ve deney hayvanlarında yapısal ve fonksiyonel değişikliklere sebebiyet vermektedir. Testislerde; seminifer tübül atrofisi, tübül duvarındaki germ

epitelinde düzensizlik ve hücre kaybı, spermatogenezin ve spermiyogenezin sekteye uğraması, bazal membranın kalınlaşması, interstisyel dokudaki Leydig hücrelerinin yapı ve fonksiyon bakımından bozukluklara sahip olması gibi değişimler gözlenir (Streger ve diğ. 1997, Anderson ve diğ. 1987).

Araştırmalarda, yüksek kan şekeri ile sperm kalitesi arasında doğrudan bir ilişki olduğu kanıtlanmıştır. Kan glikoz seviyesi yüksek olan hastalardan alınan ejakülat örneklerinde bozuk, immobil ve ölü sperm insidansının, sağlıklı bireylere oranla daha yüksek olduğu saptanmıştır. Ayrıca toplam sperm sayısının da, sağlıklı bireylere oranla düşük olduğu tespit edilmiştir. Diyabetli kişilerin uygun tedavi yöntemleri ile diyabetin sebep olduğu bu bozukluklardan belli bir oranda kurtulabilecekleri öngörülmektedir (Langtry ve diğ. 1998).

1.2.4. Testis Histolojisi

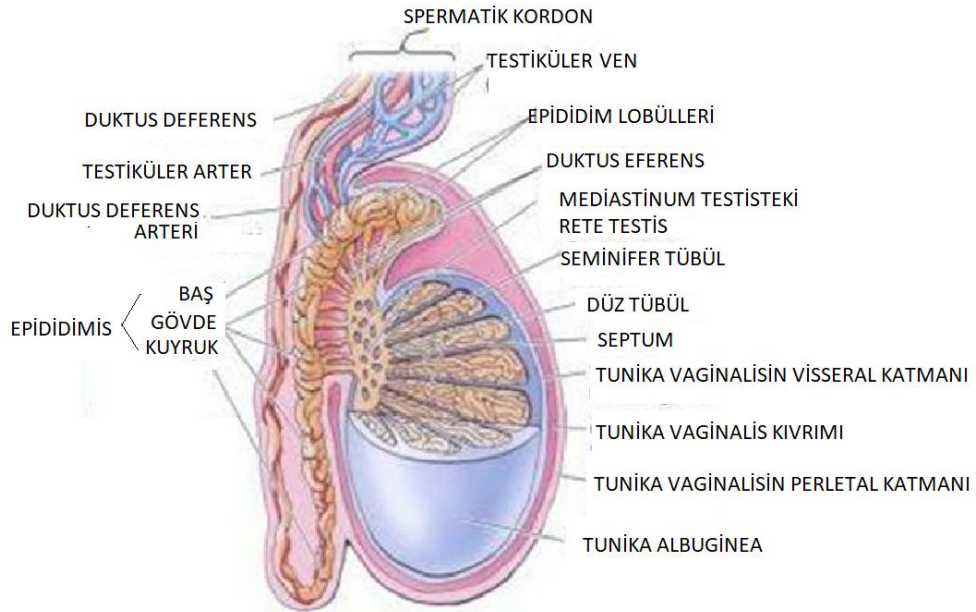
Erkek üreme sistemi; erkek gametinin devamlı üretimi, beslenmesi ve geçici olarak depo edilmesinden; erkek cinsel hormonlarının üretim ve salgılanmasından sorumludur. Bu sistemi; spermleri üreten ve androjen salgılayan testisler, dışarıya spermatozoa taşınmasında görevli dış kanallar sistemini oluşturan epididimis, duktus deferens, ejakülatuar kanal ve erkek uretrasının bir parçası, salgılarıyla semeni oluşturan ve ejaküle spermatozoanın beslenmesini sağlayan seminal vezikül, prostat bezi, bülboüretal bezlerden ve erektil dokudan oluşan çiftleşme organı olan penis oluşturur (Junquera ve diğ. 1998, Ross ve Romrell 2006) (Çizim 1.1). Testisler; embriyonik gelişim, seksüel olgunlaşma ve üreme fonksiyonlarını etkileyen, puberteyle birlikte spermatozoon üretimi ve beslenmesi, en önemli erkek cinsiyet hormonu olan testosteronun sentezinden sorumlu endokrin ve ekzokrin özellikte bir çift organdır. Testislerde her gün milyonlarca sperm üretimi gerçekleşir. Sağlıklı bir erkekte günde ortalama 150×10^6 sperm üretildiği saptanmıştır. Normal şartlarda, erişkin bir erkeğin her testisi yaklaşık 4 cm uzunluğunda, 3 cm genişliğinde ve 3 cm kalınlığında, yanlardan basık, oval görünümde bulunur.



Çizim 1.1 . Erkek Genital Sistemi (Junqueria ve Carneiro 2018)

Testisler, üç tabakadan oluşan kalın bir kapsülle sarıdır. Bu kapsülün katmanları dıştan içe doğru; **tunika vaginalis**, **tunika albuginea** ve **tunika vasküloza** olarak adlandırılır (Eşrefoğlu 2009). Tunika vaginalis; testislerin skrotuma göçü sırasında testislerin beraberlerinde taşıdıkları abdominal periton tabakasıdır. Bu tabakada dıştan pariyetal ve içten visseral yapraklar mevcuttur. Bu tabaka, tunika albugineayı örter (Junqueria ve diğ, 2018). Tunika albuginea, yoğun bağ dokusu yapıları kalın bir kapsüldür. Bu tabaka, testisin posterior kısmında yoğunlaşarak kalınlaşarak mediastinum testisi oluşturur. Testise giren ve çıkan kan ile lenf damarları ve kanallar bu tabaka içinde yer alır. Bu kısımdan testisin içine doğru uzanan fibröz uzantılar bezi testiküler lobüller denilen yaklaşık 250 pramidal kısma ayırır. Her bir lobülde, 1 ila 4 adet seminifer tübül bulunur. Seminifer tübüller, erkek üreme hücreleri olan spermatozoonların üretiminin gerçekleştiği yerdir. Seminifer tübül epitelinde üretilen spermatozoonlar sonrasında dar ve kısa bir kanal olan tübülü rektiye girer ve buradan rete testise geçerler. Spermatozoonlar, duktuli efferentes denilen yaklaşık 15 adet kısa tübül yardımıyla rete testisten ayrılır. Seminifer

tübüller arasındaki boşluğu, kan damarları, lenfatik kanallar, sinirler, makrofajlar ve Leydig hücre gruplarını kuşatan interstisyel doku doldurur. Leydig hücreleri; testosteron salgılayan, bir ya da iki şekli değişkenlik gösteren nukleolus, çok sayıda granülsüz endoplazmik retikulum, tübüler mitokondriyum, bol miktarda lipid damlacıkları, glikojen partikülleri içeren hücrelerdir. Orta yaşın üstündeki bireylerde veya infertilite durumlarında Leydig hücreleri Reinke kristaloidlerine sahip olabilir. Bu hücreler, testosteron salgısının yanında ACTH-MSH, β -endorfin, inhibin, renin-anjiyotensin, methionin-enkefalin, oksitosin, aktivin, kortikotropin salgılatıcı faktör ve β -büyüme faktörü ile substans-P gibi sekresyon ürünlerinden de sorumludur (Kierszenbaum 2006). En alt tabaka ise tunika vasküloza adı verilen, yoğun kan damarlarına sahip gevşek bir bağ dokusudur; testisin vasküler kapsülünü oluşturur (Gartner ve Hiatt 2009, Parker 1993, Ross ve Romrell 2006). (Çizim 1.2).



Çizim 1.2 . Testisin Histolojik Yapısı (Junquera ve Carneiro, 2018)

1.2.4.1. Seminifer Tübüller

Seminifer tübüller, ortalama 200 mikro metre çapında, ≈ 50 cm uzunluğunda, çok kıvrımlı kanallardır. Her testiste yaklaşık 1000 ± 200 adet seminifer tübül bulunur. Bu sıkıca

bükülmüş içi boş tüp benzeri yapıların içinde spermatogenez olayı gerçekleşir. Anastomoz gösteren kıvrımlar şeklinde başlar, medaistinuma yaklaştıkça birbirlerine yaklaşp düz ve kısa tübüller olan tübüli rektiye oluştururlar. Seminifer tübüller, modifiye çok katlı epitel ile örtülüdür; bu epitel, seminifer epitel veya germinal epitel olarak adlandırılır. Seminifer epiteli, dıştan bazal lamina ile kollajen lifler ve kasılabilir miyoid hücrelerden oluşan özelleşmiş, çok tabakalı bağ dokusu ile sarılıdır. Bu yapıya peritübüler doku veya tunika propia adı verilir. Bu dokuda bulunan miyoid hücre düzeni canlılar arasında farklılık gösterebilir. Kemirgenlerde tek tabakalıken insanlarda 3-4 tabaka halinde gözlemlenebilir. Miyoid hücre organizasyonu ile hareketsiz spermlerin rete testise doğru iletimi sağlanır.

Seminifer tübüllerde karşılaşılan iki ana hücre grubu vardır: Germ hücreleri olan spermatogenik seri ile beslenme ve destek sağlayan Sertoli hücreleridir (Ross ve Romrell, 2006, Junquera ve Carneiro 2018).

1.2.4.2. Sertoli Hücreleri

Destek hücreleri olarak da bilinen Sertoli hücreleri, bazal kısımdan lümene kadar uzanan büyük ve prizmatik şekilli hücrelerdir. Bu hücreler, sperm hücreleri gelişirken ihtiyaçları olan beslenme, korunma ve destek yardımında bulunur. Bölünme yeteneğine sahip değildir. Tam farklılaşmamış, olgunlaşmamış, hatalı spermatogenik hücrelerin fagosite edilerek ortadan kaldırılmasında da rol oynarlar. Puberteye kadar Sertoli hücreleri seminifer epitelde gözlemlenen hücreler arasında en baskın olarak bulunur. Puberteden sonra sayılarında düşüş gözlemlenir. Yaşla beraber spermatogenik aktivitenin düşüşüne bağlı olarak yeniden seminifer epitelin ana elemanı haline gelirler (Ross ve Romrell 2006).

Sertoli hücreleri, genelde, yuvarlak veya üçgen şekillerde bulunur. Nükleusları ökromatik ve büyüktür, bazal sitoplazmada gözlenir ve 1-2 tane belirgin nukleolus bulundurur. Nükleusları bir ya da birden fazla derin invajinasyon gösterir. Sertoli hücrelerinin sitoplazmaları lipid damlacıkları bakımından zengindir. Ayrıca sitoplazmalarında; gelişmiş granüllü ve granülsüz endoplazmik retikulum, bol miktarda mitokondri, belirgin Golgi kompleksi, dağınık halde ve çok sayıda ribozom, birincil ve ikincil lizozom, glikojen granülleri, mikrofilamentler ve mikrotübüller bulunur.

Sertoli hücreleri, dihidrotestosteron ve testosterona yüksek afiniteyle bağlanma özelliğine sahip androjen bağlayıcı protein (Androjen Binding Protein / ABP) sentezlerler.

ABP sayesinde, luminal bölgede, testosteron hormonu yüksek derişimde tutulur, gelişim ve farklılaşma evresindeki spermlerin olgunlaşması sağlanır. Bu hücreler ayrıca FSH hormon salınımını baskılayan inhibin, transferin ve plazminojen aktivatör sentezlerler (Kierszenbaum 2006).

Sertoli hücrelerinin önemli fonksiyonları:

- Gelişmekte olan spermatogonik hücrelerin desteklenmesi, korunması ve beslenmesi,
- Spermiyogenezin sonunda atılan rezidüel cisimcik veya gelişimi tamamlanamamış spermatogonik hücrelerin fagosite edilmesi,
- Kan-testis bariyerine katılması,
- Seminifer tübüllerin lümenine sperm iletimini kolaylaştıran protein iyonları bakımından zengin sıvı salgılamak,
- Plazminojen aktivatör ve transferrin gibi moleküllerin sentezi ve FSH' in uyarımı ile ABP' nin sentezlenmesi,
- Anterior hipofiz bezinden FSH sentezinin ve salgısının önlenmesini sağlayan inhibin ile salgıyı uyaran aktivin adlı peptidlerin salgılanması,
- Müllerian-inhibe-edici (Anti-Müllerian) hormonunun üretimi (Junquera ve diğ. 2018, Cormack 2001).

1.2.4.3. Kan-Testis Bariyeri

Kan-testis bariyeri, germ hücrelerinin kandan gelebilecek ilaç, toksik maddeler ve mutajen gibi zararlı olabilecek ajanlara karşı korunmasını ve seminifer tübüllerdeki iyon, karbonhidret, aminoasit ve protein içeriğinin, lenf ve kandaki içerikten farklı olmasını sağlar. Bu bariyer, Sertoli hücreleri arasındaki sıkı bağlantı yapıları sayesinde, interstisyel dokudaki kan damarları ve seminifer tübüller arasında oluşur (Junquera ve diğ. 2018).

Spermatogonyumlar farklılaşırken, sperme özgü olan proteinler ortaya çıkmaya başlar. Cinsel olgunlaşma, immünolojik olgunlaşmadan çok daha sonra meydana geldiğinden, spermler farklılaşırken immün sistem tarafından yabancı olarak algılanabilir. Bu durum, germ hücrelerinin immün sistem elemanları tarafından öldürülmesine yol açabilir. Kan-testis bariyeri, immünoglobulinlerin seminifer tübüllere geçmesini önleyerek, sekonder

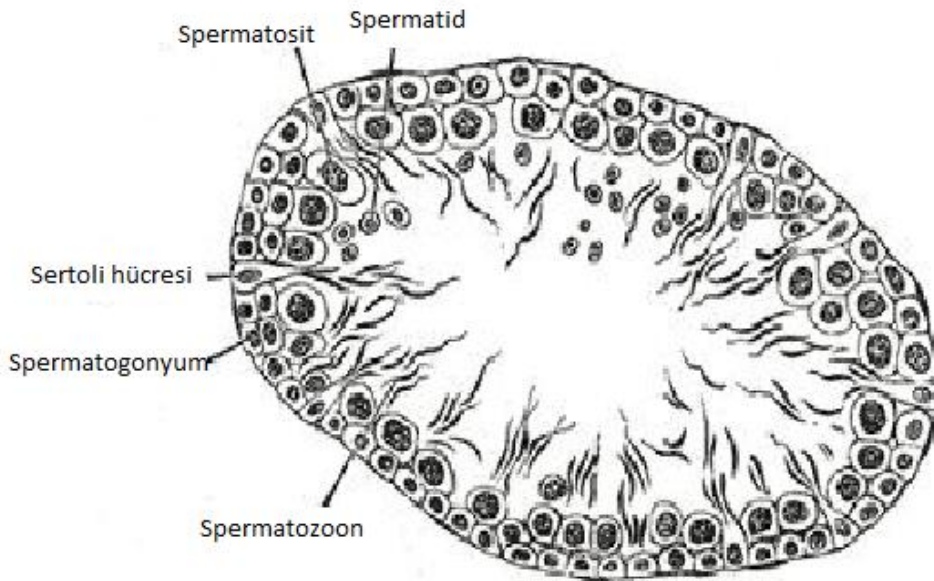
spermatosit, spermatit ve spermlerin immün sistem tarafından yok edilmesine neden olacak bu reaksiyonu engeller (Ross ve Pawlina 2011, Cormack 2001).

1.2.4.4. Spermatogenik Hücreler

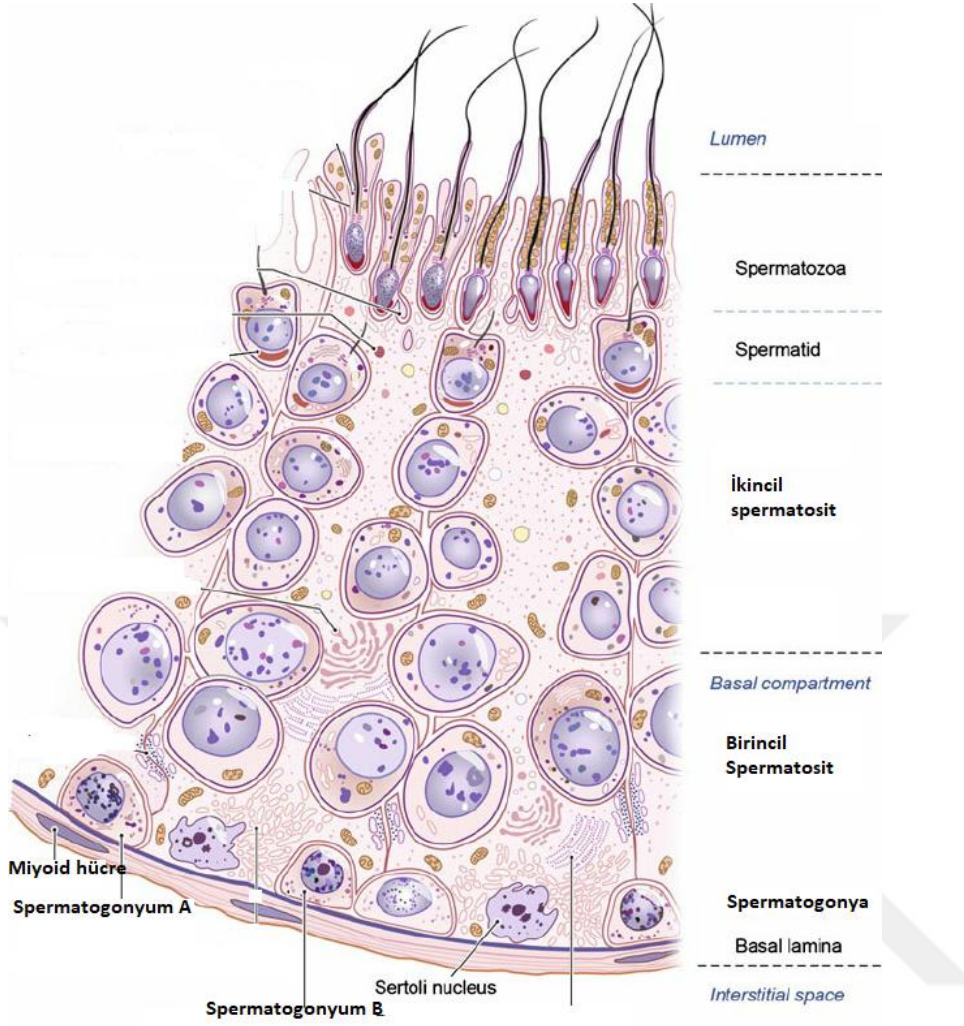
Spermatogonyumlar, primitif erkek germ hücreleridir ve puberte ile birlikte bölünüp farklılaşmaya başlarlar. Bu işlem sonucu spermler oluşur. Bu olaya, spermatogenez adı verilmektedir. Spermatogenik hücreler düzenli olarak bölünerek spermlere farklılaşırken, 4-8 tabaka hücre içerirler. Bu hücre tipleri bazaldan lümene doğru: (Çizim 1.3 ve Çizim 1.4)

1. Spermatogonyumlar
2. Primer spermatositler
3. Sekonder spermatositler
4. Spermatidler
5. Spermatozoonlar

(Young ve Heat 2000, Kierszenbaum 2006).



Çizim 1.3 . Seminifer Tübülde Spermatogenik Hücre Katmanları (Drake ve diğ. 2014)



Çizim 1.4 . Seminifer tübül kesitinde spermatogonik hücreler.(Zini A ve Agarwal A 2011)

1.2.4.4.1. Spermatozoidler

Sertoli hücreleri arasında bulunan zonula okludens bağlantılarının altına lokalize olmuş, kan-testis bariyerinin en dış hattındaki, bazal laminaya direkt bağlantı gösteren hücreler, spermatozoidlerdir. Tip A Koyu, Tip A Açık ve Tip B spermatozoidler olarak üç ana morfolojik tipte bulunurlar.

Tip A Koyu Spermatozoidler, seminifer epitelin kök hücreleridir. Yoğun bazofilik ve ince granüler kromatinli oval çekirdek bulundurlar. Puberteden itibaren mitotik bölünmeler ile Tip A Koyu veya Tip A Açık spermatozoidleri oluştururlar.

Tip A Açık Spermatozoidler, açık renkli boyanan, ince granüler kromatinli oval nükleus bulundurlar. Mitotik bölünmeler geçirek Tip B spermatozoidleri oluştururlar.

Tip B Spermatogonyumlar, sentral yerleşimli çekirdek içerirler. Nükleuslarında kromatin, nukleolus çevresinde ve nükleus kılıfı boyunca yoğunlaşma gösterir (Ross ve Romrell 2006, Young ve Heat 2000).

1.2.4.4.2. Spermatisitler

Primer spermatisitler, Tip B spermatogonyumların mitoz bölünmeleriyle oluşur. DNA sentez işlemi tamamlandıktan sonra mayoz bölünmenin profaz aşaması başlar. Birinci mayoz bölünmede alt evreler olarak; leptoten, zigoten, pakiten, diploten ve diyakinez izlenir. Zigoten-pakiten evrelerinde homolog kromozom eşleşmesini kolaylaştıran sinaptonemal kompleks formasyonu, homolog kromozom eşleşmesi olan sinapsis, homolog kromozomların kardeş olmayan kromatitleri arası genetik materyal transferi olan crossing-over ve eşleşmiş kromozom ayrılması gibi olaylar izlenir. Profaz yaklaşık 22 gün sürdüğünden mikroskopik incelemede gözlemlenen hücrelerin çoğu primer spermatisit olarak görülür. Bu uzun profaz evresinin ardından kardeş kromatid çiftleri; metafaz, anafaz ve telofaz aşamalarına geçer. Bu işlemlerin sonucunda oluşan yeni hücrelere sekonder spermatisit adı verilir. Ardından ikinci mayoz evresi başlar. Bu evre birinci mayoz evresine göre daha hızlı ilerler. Profaz, metafaz, anafaz ve telofaz evrelerinden geçen hücreler en sonunda spermatidleri oluşturur (Kierszenbaum 2006).

Testis kesitlerinde, sekonder spermatisitlerin görünmesi, interfaz aşamasının kısa olup hızla ikinci mayoz evresine geçilmesinden dolayı, görece olarak daha zordur (Young ve Heat 2000).

1.2.4.4.3. Spermatisidler

Sekonder spermatisitlerin ikinci mayoz bölünmeleri sonucunda oluşan haploid kromozoma sahip hücrelerdir. Seminifer tübül adluminal bölgesinde bulunurlar. Boyutları küçük, yoğunlaşmış kromatinli nükleusları, seminifer tübüllerde lümene yakın Sertoli hücrelerinin derin invaginasyonları içine yerleşik bulunmaları ile karakterizedirler. Bu hücreler, spermiyogenez adlı bir farklılaşma süreci geçirerek metamorfoza uğrarlar. Bu farklılaşma sürecinde; akrozom oluşumu, çekirdek kondensasyonu, kuyruk gelişimi ve sitoplazma kaybı gözlemlenir (Ross ve Pawlina 2011, Kierszenbaum 2006).

Spermatidlerde merkezi bir nükleus, gelişmiş Golgi kompleksi ve bol miktarda mitokondri bulunur. Spermatidlerde ayrıca bir çift sentriyol bulunur. Spermatid, olgun bir sperme farklılaşırken 4 evre geçirir. Bu fazlar, spermatidlerin Sertoli hücre membranına geliştirdikleri özel bağlantılarla fiziksel olarak bağlanmaları ile başlar.

I- Golgi fazı: Çekirdeğin bir kutbunda yerleşim gösteren Golgi kompleksi, Periyodik asit-Schiff (PAS) pozitif granüller olan pro-akrozomal granül birikimi gösterir. Bu granüller, çekirdek kılıfı yakınında bulunan akrozomal veziküller ile birleşir. Bu aşamada; sentriyoller, akrozomal vezikülün şekillendiği çekirdek bölgesinin zıt kutbuna göçer ve spermin kuyruğunun şekillenmesini başlatır.

II- Şapka fazı: Akrozomal vezikülün yerleşim gösterdiği çekirdek yüzeyinde yarıya kadar, akrozomal şapka adlı yayılma gözlemlenir. Bu şapkanın altında bulunan çekirdek kılıfı, porlarını kaybeder ve kalınlaşır. Çekirdeğin içeriği yoğunlaşır.

III- Akrozomal faz: Çekirdek yoğunlaşması ve uzaması gözlemlenir. Sitoplazmik kısmi posterior tarafta kalır. Sitoplazmik mikrotübüller, manşet şeklinde düzenlenir. Sentriyoller, spermin boyun bölgesinin şekillenmesini başlatır. Plazma membranı arka kısma doğru uzar, bu arada manşet kaybolur. Mitokondriyonlar sitoplazmanın derin kısmından boyun bölgesine gelir. Orta parça şekillenmesi gözlenir.

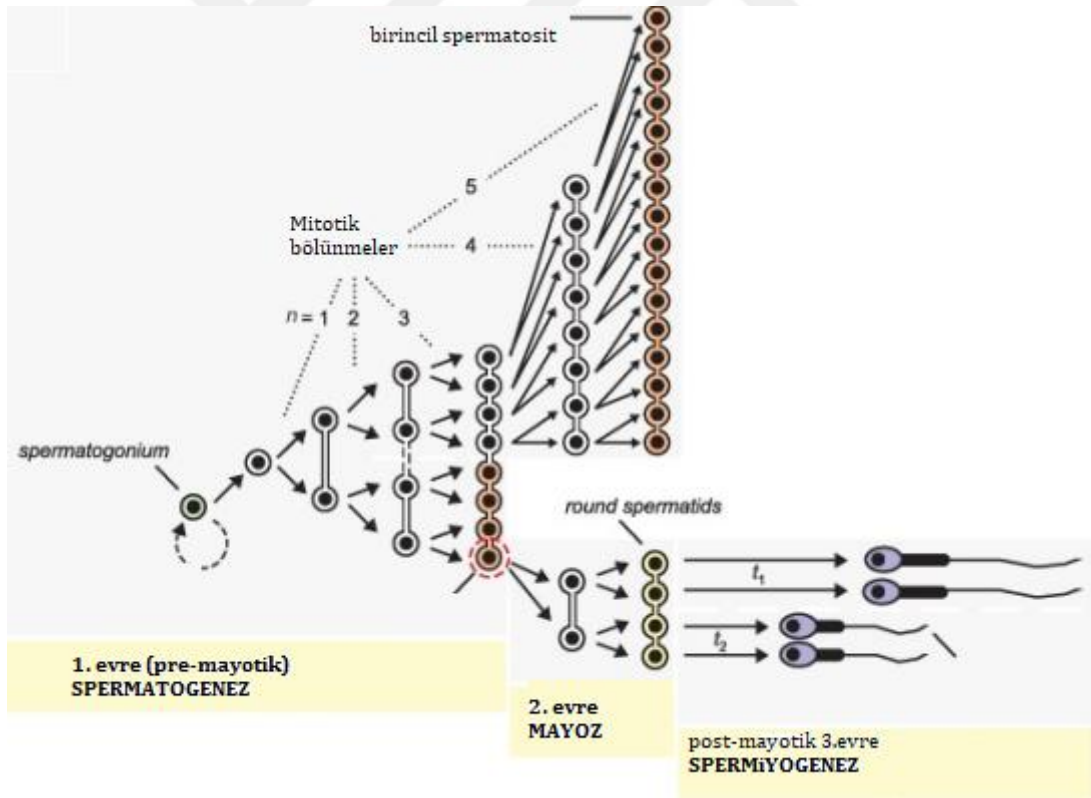
IV- Olgunlaşma fazı: Sitoplazmik artıkların spermden atılması gerçekleşir. Atılan bu yapılar, Sertoli hücrelerince fagosite edilerek ortadan kaldırılır. Spermatidlerin birbirleriyle bağlantıları bitmiştir. Spermatidler, seminifer tübül lümenine salınırlar (Paker 1993, Eşrefoğlu 2009, Ross 2016).

1.2.4.4.4. Spermiyumlar (Spermatozoon)

Erkeklerin olgunlaşmış germ hücrelerine, spermiyum denir. İnsanda spermatogonyumların spermiyuma dönüşme süreci ortalama 64 gündür, sıçanlarda ise 48-53 günlük bir süreç olarak gözlemlenir, bu aşamaya spermatogenez adı verilir. Bu olay sırasında; spermatogonyumların olgun hücrelere dönüşümünün yanı sıra, apoptozis de gözlemlenir. Bu süreç, hormonlara bağımlı kompleks bir hücresel gelişim sürecidir. Üç temel aşaması mevcuttur; Çoğalma evresi(Spermatositogenez), Büyüme evresi ve Olgunlaşma evresi (Spermiyogenez) (Macleane ve Wilkinson 2005).

Olgun insan spermi baş, boyun ve kuyruk bölümlerinden oluşur. Spermin baş ve kuyruk kısımları, plazma membranı tarafından sarılmıştır (Junquera ve Carneiro 2018).

Baş bölümü, akrozomla sarılı bir çekirdektir. Çekirdek yassı şekillidir ve kromatidi yoğunlaşmıştır. Akrozomda, oositi çevreleyen korona radiata hücrelerini birbirinden ayırmaya ve zona pellusidayı sindirmeye yarayan akrozin denilen tripsin benzeri proteaz, asit fosfataz, hyaluronidaz ve nöroaminidaz gibi hidrolitik enzimler içeren özel bir tip lizozom bulunur. Boyun ise, baş ve kuyruk kısımlarının arasındaki bağlantıyı sağlayan bir çift sentiyoldür(Young ve Heat 2000). Kuyruk ise, yapısal açıdan silyumlara benzer. Orta parça, esas parça ve son parça olarak 3 özel bölgesi vardır. Orta parçadaki sarmal dizimli mitokondrial tabaka; 9+2 mikrotübüler aksonema ve sperm boynundaki bağlantı parçasından başlayıp kuyruk boyunca uzanan 9 adet uzunlamasına yerleşim gösteren filamandan oluşur. Esas parça ise kuyruğun en uzun parçasıdır. 7 adet dış yoğun lifle sarılı merkezi aksonema ve fibröz bir kılıftan oluşur. Bu yapılar, spermin hareketi için gereklidir. Son parça ise dış yoğun liflerin ve fibröz kılıfın erken bitişinden dolayı çok kısa bir parça olarak bulunur (Cormack 2001).



Çizim 1.5 . Spermatogenezin aşamaları (Roosen-Runge ve diğ. 1977)

1.2.4.5. İntertisyel Doku

Testiste, seminifer túbüllerin arasında Leydig hücreleri, sinirler, gevşek bağ dokusu ile kan ve lenf damarları mevcuttur. Bu elemanlar, seminifer túbüllerin arasını doldurur. Testiküler kapiller, kan proteinleri gibi makromoleküllerin rahatça geçebilmesi için pencerelidir. İnterstitiyum; Leydig hücreleri, farklılaşmamış bağ doku hücreleri, fibroblastlar, makrofaj ve mast hücrelerini içermektedir (Cormack 2001, Ross ve Romrell 2006).

1.2.4.6. Leydig Hücreleri

Leydig, interstisyel hücreler, interstisyel alanda kan ve lenf damarlarında yakın konumlanmış, poligonal veya yuvarlak şekilli, eozinofilik, büyük hücrelerdir. Çekirdekleri merkezi yerleşimli ve bir ya da iki adettir. Çekirdekçikleri belirgindir. Kromatin granülleri bulundurulur. Bu hücreler, sekonder cinsiyet özelliklerinin gelişiminden sorumlu olan erkeklik hormonu testosteronun üretimini gerçekleştirirler. Kan serumundaki total testosteronun yaklaşık %95' i, Leydig hücreleri tarafından üretilirken kalan %5' lik bölümü adrenal korteks tarafından sentezlenir (Ross ve Romrell 2006, Paker 1993).

1.2.5. Testis Embriyolojisi

İnsan gonadları, mezonefroz boyunca uzanmakta olan mezodermden gelişir. Bu bölgedeki kranial kısmın hücreleri yoğunlaşıp “Adrenokortikal Primordia” yı; kaudal kısım hücreleri de, ortalama 5.haftada görünür bir hale gelen “Genital Kabarıklıklar”ı oluşturmaya programlıdır. Erken evrede genital kabarıklıklar, kölomik epitel kökenli hücreler ile mezonefrik kabarıklıklardan köken alan hücreler olarak iki hücre grubunu bulundurur. Gonadların kökeni olan doku ile hücreler; posterior karın duvarındaki mezotel (kölom epiteli) ile bu katın altındaki mezenkim doku ve primordiyal germ hücreleri (ilkel eşey hücreleri)dir (Şeftalioğu 1998, Carlson 2004).

1.2.5.1. Primordiyal Germ Hücreleri (PGH)

Gelişimin dördüncü haftasında kaudal mezoderme giren vitellusun allantoise bakan bölümündeki endodermal hücrelerin farklılaşması ile oluşan hücrelerdir. Büyük ve yuvarlaklardır. Ortalama 20. günden itibaren allantoisin üzerinden ve son bağırsağın arkasından geçip, plika genitalise göç ederler. Bu göçte, dorsal mezenter doğrultusunu takip eder ve ameboid hareketle ilerlerler (Petorak 1989, Kayalı ve diğ. 1989).

1.2.5.2. Gonadlar

Embriyonun cinsiyeti, fertilizasyon aşamasında genetik bakımdan belirlenir; ancak, gelişimin yaklaşık 7. haftasına kadar embriyonun gonadları dişi veya erkek morfolojik özelliklerini bulundurmaz. Başlangıçta gonadlar, uzunlamasına şekillenmiş, kölomik epitel proliferasyonu ile altta bulunan mezenşimin yoğunlaşması yoluyla oluşmuş gonadal ya da genital bir çift sırt halinde ortaya çıkar. İlkel cinsiyet hücreleri olan PGH' leri, gelişimin erken aşamalarında yolk kesesinin allantoise bakan duvarında bulunan endoderm hücrelerinin aralarında ortaya çıkar. Bu hücreler, 5. haftanın balında ilkel gonadlarda bulunurken 6. haftada genital sırtlara ulaşır ve bu kısma yayılırlar. Eğer, PGH' ler genital sırtlara ulaşamazlarsa, gonad formasyonu görülmez. Gonadların erkek ya da dişi morfolojisini geliştirip, bir cinsiyete ait karaktere sahip olması için PGH' lerin indükleyici etkisi elzemdir. PGH' ler, ilkel gonadlara ulaşmadan hemen önce ve ulaştığı anlarda, genital sırt epiteli proliferasyonu gözlenir ve proliferen olan hücreler alttaki mezenşime gömülür. Bu aşama ile ilkel cinsiyet kordonları adı verilen düzensiz şekilli kordonlar oluşmaya başlar. Her iki cinsiyete ait embriyoda da bu kordon yapıları yüzey epiteline bağlı durumdadır bu nedenle bu dönemde morfolojik incelemelerle embriyonun cinsiyetinin tayini mümkün değildir. Bu evredeki gonada "farklanmamış gonad" adı verilir (Şeftalioğlu 1998, Sadler 2005).

İnsanda cinsiyet gelişimi, bir çok genin -bazıları otozomal- rol oynadığı karmaşık bir süreçtir. Cinsiyet dimorfizminin anahtar rolü, Y kromozomunun kısa kolunda -Yp11- bulunan SRY (Sex Determining Region Y = Cinsiyet Belirleyici Bölge) geni oynar. Bu genin ürünü olan protein, cinsiyet organlarının oluşumunu şekillendirecek olan genlerin aktivasyonunda etkin olacak bir transkripsiyon faktörüdür. SRY proteini, testis belirleyici faktör (TBF)dür. SRY geni yokluğunda dişi tipi gelişir (Sadler 2005).

Erkek embriyoların farklılaşma döneminde, SRY geni protein ürünleri ilk olarak genital kabarıklıklarda görülür. SRY, stromal hücrelerden Sertoli hücrelerinin oluşumunu tetikleyen Sox-9 geninin ekspresyonunu uyarır. Sox-9 ekspresyonu ile erkek cinsiyet farklılaşması kuvvetlenir. Genital kabarıklıklar, 5. haftanın ortalarına doğru daha da belirginleşir. Bu belirginleşmede kölomik epitelin mezonefroz medyalına göçü ve proliferasyon etkilidir. PGH' leri, bu kabarıklıklara girer. 6. haftanın başlarında ise Sox-9TF (Sox-9 Transkripsiyon Faktörü) etkisi ile genital kabarıklıklarda ilkel cinsiyet kordonları oluşur ve PGH' ler bu kordonların içine girer. 6. haftanın sonlarına doğru

kordonlar farklılaşma abaşlar. Bu farklılaşmalarla tunika albuginea tarafından germinal epitel / yüzey epitelinden ayrılır. Testiküler seks kordonlarının iç kısımları “rete testis”i oluştururken dış tarafları “seminifer tübüller”i oluşturur (Carlson 2004, Schoenwolf ve diğ. 2008).

Leydig hücre öncüleri, mezonefrozdaki testisin içine göçerler. Bu durum, 8. hafta boyu şekil alır ve androjenik hormonlar olan testosteron ile androstenedion üretimi başlar. Bu hormonlar ile erkekte cinsel kanalla sistemi ile dış genital organ formasyonu sağlanır. Bu hormonlar, fetal testis tarafından sağlanır. 17 ila 18. hafta sonralarında Leydig hücrelerinin hormon sekresyonu baskılanır ve spermatogenez sürecinin uyarılacağı puberte dönemine kadar baskılanmış olarak kalır (Moore ve Persaud 2002).

6-7. haftalarda embriyonik Sertoli hücreleri MIS (Mullerian İnhibitör Madde) üretir, interstisyel hücreler de 8. haftada testosteron salgısına başlarlar. Testosteron üretimini, hCGH (insan Koryonik Gonadotropik hormon) kontrol eder. Testosteron ile erkeklerde erkek genital duktusların oluşumu uyarılır. Erkek genital duktusları, mezonefrik duktuslardan oluşur. MIS ise paramezonefrik duktusların kaybına neden olur. Mezonefrik duktuslardan duktuli efferentesler oluşur. Bu kanallar, mezonefrik duktusa açılarak açıldıkları yeri duktus epididimise dönüştürür. Epididimisin distalindeki mezonefrik duktuslarda kalın bir düz kas tabakası belirir ve burada duktus deferens oluşur. Mezonefrik duktusun kaudal ucunda seminal veziküller şekillenir. Bu bezler, spermlerin beslenmesi için salgı yaparlar. Üretra ile seminal veziküllerin duktusu arasındaki mezonefrik duktus kısmı, “ejekuluar duktus” olarak şekillenir (Moore ve Persaud 2016, Sadler 2005).

1.2.6. Atorvastatin

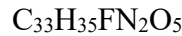
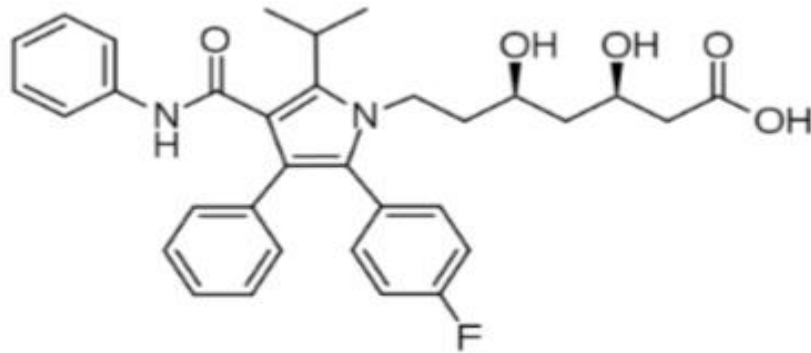
Atorvastatin, ikincil kuşak statin grubundan bir lipid düşürücü bir hipolipidemiktir. 3-hidroksi-3-metilglutaril koenzim-A (HMG-CoA)'yı inhibe eder. HMG-CoA'nın inhibisyonu, kolesterol üretimini inhibe eder. Bu inhibisyon geri dönüşümlü bir reaksiyondur. Dolayısıyla, plazmadaki kolesterol düzeyi azalır. Atorvastatin, LDL(düşük yoğunluklu lipoprotein), VLDL(çok düşük yoğunluklu lipoprotein), trigliserit ve total kolesterol seviyelerinde düşüş sağlar. Ancak HDL(yüksek yoğunluklu lipoprotein) seviyesinde bir değişikliğe neden olmaz (Davidson ve diğ. 1997, Dart ve diğ. 1997, Bertoli ve diğ. 1997)

Atorvastatinin trigliserit düzeyindeki azalmaya olan etkisinin diğer statinlerden farklı olarak iki olası mekanizmayla etki ettiği düşünülmektedir:

1. Kolesterol sentezinin inhibisyonu yoluyla VLDL sekresyonunun azalmasıyla trigliseritlerin vücutta taşınmasının önlenmesi
2. LDL reseptörünün ekspresyonundaki artış dolayısıyla LDL ile VLDL bağlanmasının atışı (Bakker ve diğ. 1996, Lea ve diğ. 1997).

Atorvastatin, aynı zamanda, eNOS(endotelial nitrik oksit sentaz)' u artırır, inflamasyonu engelleme, aterosklerotik plak stabilizasyonu, platelet aktivitesiyle pıhtılaşma düzenleme, tümör hücrelerindeki büyümeyi engelleme, hücreler arası kalsiyumun dolaşımı gibi etkilere sahiptir. Statin tedavisi gören hastalarda kemik fraktür riskinde düşüş gözlemlenmiştir (Bellosta ve diğ. 2000, Meier ve diğ. 2000).

Statin kullanımlarında en sık karşılaşılan yan etkiler; abdominal ağrı, konstipasyon, dispepsi gibi gastrointestinal problemler ile karaciğer transaminazı artışı ve miyopati gibi ciddi rahatsızlıklardır. Statin kullanımına bağlı olarak gelişen rabdomiyoliz ve miyopati riski; karaciğer ve renal bozukluklar, diyabet, hipotiroidi, aşırı alkol kullanımı, ağır fiziksel aktivite, varfarin, azol antifungallerin alınımı gibi durumlarda artmaktadır (Lea ve diğ. 1997, Stancu ve diğ. 2001).



Çizim 1.6 . Atorvastatin'in kimyasal formülü

(International Union Pure Applied Chemistry, IUPAC' tan alınmıştır). (3R,5R)-7-[2-(4-fluorofenil)-3-fenil-4-(fenilkarbamoil)-5-propan-2-il-pirol-1-il]-3,5-dihidroksiheptanoik asit (PubChem LCSS-Laboratory Chemical Safety Summary for CID 60823)

1.2.7. Tarçın

Tarçın, *Cinnamomum* familyasına ait yaklaşık 4000 yıllık tarihi olan, yaprak dökmeven çok yıllık bir ağaçtan elde edilir. Bugüne kadar yaklaşık 250 türü tanımlanmış olsa da genel olarak Seylan tarçını (*C. zeylanicum*; *C. verum*) ve Çin tarçını (*C. cassia*; *C. aromaticum*) olmak üzere iki türüne rastlanmaktadır. Tarçın, baharat olarak kullanılır. Bu baharat, ağacın gövde ve dalının kabuklarının dış kısmının sıyrılıp iç kısmının kurutulması ile elde edilir. Bu iç kabuk kurutulduktan sonra öğütülerek “toz tarçın” ya da öğütülmeden “kabuk/çubuk tarçın” olarak kullanılabilir. Tarçın; Çin, Hindistan ve Vietnam gibi ülkelerde kendiliğinden yetişebilen, bilinen en eski bitkisel ilaçlardan biridir (Leung ve diğ. 1996).

Tarçın; antimikrobiyal aktivite, kanserli hücre oluşumunun engellenmesi ve inhibisyonu, immün sistem güçlendirme, glikoz dengeleme gibi bir çok etkiye sahiptir (Anderson ve diğ. 2000). Tarçında bulunan fenolik bileşikler, tarçına doğal bir antioksidan olma özelliği kazandırmıştır (Kılıçle ve diğ. 2012). Tarçının suda çözünen bileşiklerinden olan prosiyadin-A polimerlerinin diyabet ve glikoz intoleransında yararlı olabileceği düşünülmektedir (Anderson ve diğ. 2000). Tarçında ortalama 35 bileşik gözlemlenmiştir; bunlardan bazıları: linalool, metilamilketon, furfural, benzaldehit, küminaldehit, hidroksinamaldehit, p-simen, pinen ve karyofilendir. Tarçının uçucu yağlarından, yaklaşık %80’ ini tarçına koyu kırmızı rengini veren sinnamaldehit, %10’ unu öjenol ve %1-5 oranını da kumarin oluşturur (Keskin 1982, Agarwal ve diğ. 2000). Daha açık renge ve tatlı aromaya sahip olan Seylan tarçınının kumarin oranı, Çin tarçınına göre daha düşüktür (\approx %0,01) (Abraham ve diğ. 2010).

Tarçın kabuğunun sıcak suyla etkileşiminin, oral yolla tüketimde sinnamik asitten en iyi düzeyde biyoyararlanım sağladığı tespit edilmiştir (European Medicines Agency 2010).

1.2.7.1. Tarçının Kullanımı

Tarçın, eskiden beri halk arasında gastrointestinal rahatsızlıklarda (karın ağrısı, diyare ve şişkinlik gibi durumlarda), yorgunluk durumunda, antibakteriyel olarak, soğuk algınlığı ve gribal enfeksiyon semptomlarının giderilmesinde kullanılmaktadır (Gruenwald ve diğ. 2000). Çin Tıbbı’ nda diyare, cinsel güçsüzlük, romatizma, menstrual düzensizlik, menopo, diyabet, immün sistem zayıflığında; Hint Tıbbı’ nda sindirim sistemi rahatsızlıkları ve diyare gibi durumların giderilmesinde kullanılmıştır (Barcelouuxv 2015, Kim ve diğ. 2006).

Son yıllarda yapılan çalışmalar, tarçının insülin direnci, kolesterol, trigliserit, kan şekeri seviyesi gibi durumlarda yararlı olduğunu göstermiştir (Allen ve diğ. 2013). Bu sebeple tarçın, insülin direnci, Tip-1 ve Tip-2 diyabet, metabolik sendrom, artrit gibi hastalıklarda tavsiye edilmektedir. Ancak kanıt yetersizliği dolayısıyla tarçının ilaç olarak kullanılması FDA tarafından onaylanmamıştır (Çanaklı 2016).

1.2.7.2. Tarçının Biyolojik Aktiviteleri

Tarçının diyabete olan etkisinin yanı sıra bir çok yararlı aktivitesinin olduğu saptanmıştır.

I- Anti-inflamatuar, anti-mikrobiyal ve anti-viral etkisi:

In vitro verilere göre tarçın kabuğunun yağının sulu veya etanolik çözeltilerinin Gr(+), Gr(-) bakteriler, HIV ve influenza virüsleri karşısında güçlü antiviral ve antibakteriyel özellikte olduğu tespit edilmiştir (Gruenwald ve diğ. 2010).

Tarçının COX-2 ve NO oluşumunun inhibisyonunu sağlayarak anti-inflamatuar etki gösterdiği fark edilmiştir (Hong ve diğ. 2002). Tarçının sulu çözeltilerinin TNF- α (Tümör Nekrozis Faktör- α) ve IL-6(İnterlökin-6) seviyelerinde azalma sağladığı ve bu şekilde anti-inflamatuar etki gösterdiği rapor edilmiştir (Hong ve diğ. 2012).

Tarçın kabuğu yağının, özellikle sinnamaldehit ve öjenol, *B.cereus*, *C.jejuni*, *E. faecalis*, *E.coli*, *L.monocytogenes*, *H.influenzae*, *S.choleraesuis*, *P.aeruginosa*, *S. aureus*, *S.pneumoniae* gibi Gr(+) ve Gr(-) birçok mikroorganizmaya karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiği saptanmıştır (Friedman ve diğ. 2002, Inouye ve diğ. 2001, Lopez ve diğ. 2005).

Tarçının HIV ile enfekte olan MT-4 hücrelerinde sitopatojenite inhibisyonu yolu ile HIV-1 ve HIV-2 replikasyonuna karşı etki ettiği bulunmuştur (Premanhattan ve diğ. 2000).

II- Anti-fungal etkisi:

Cinnamomum türlerinin esansiyel yağlarının antikandidal ve antidermatofitik etki gösterdiği *in vitro* olarak kanıtlanmıştır (Mastura ve diğ. 1999).

Seylan tarçınının esansiyel yağlarının *Aspergillus niger*, *A. versicolor*, *A. terreus*, *Penicillium ochrochloron* vb. 17 mantar türüne karşı güçlü antifungal aktivite gösterdiği kanıtlanmış (Simic ve diğ. 2004) ve tarçın kabuğunun yapısında bulunan sinnamik aldehit, güçlü bir fungitoksik olarak tanımlanmıştır (Singh ve diğ. 1995).

III- Antioksidan etkisi:

Tarçında antioksidan özelliğe sahip gamma-terpinen, tanenler, salisilik asit, öjenol ve kamfen gibi fitokimyasallar, kateşinler ile A- ve B- tip prosiyaninler bulunmaktadır. Çalışmalar, tarçın kabuğu ekstrelerinin içerdiği yüksek miktardaki antioksidan sayesinde lipit peroksidasyonunu α -tokoferole oranla daha iyi inhibe ettiğini göstermiştir. Radikal giderici özelliğinin, propil gallat ile neredeyse eşit olduğu rapor edilmiştir (Nonaka ve diğ. 1983, Tanaka ve diğ. 2008, Lin ve diğ. 2003, Murcia ve diğ. 2004)

IV- Antitümör etkisi:

Tarçının bazı kanser tiplerinin gelişimine karşı koruyucu etkilerinin olduğu saptanmıştır (Scholene ve diğ. 2005).

1.2.7.3. Tarçının Toksisitesi

Tarçının içeriğindeki kumarin, safrol, sinnamaldehit ve stirenin potansiyel olarak toksik etki oluşturabileceği kanaati mevcuttur.

Kumarin (benzo- α -piron), deney hayvanlarında hepatotoksik etki göstermiş ve akciğer hasarlarına sebebiyet vermiştir. Uzun süreli tüketiminde fare ve sıçanlarda kalıcı karaciğer ve akciğer tümörlerinin indüklendiği görülmüştür (European Food Safety Association 2008). Gebeliğin ilk trimesterinde kumarine maruz kalınmasının malformasyonlara neden olabileceği düşünülmektedir (Zipprich ve diğ. 1987).

Sinnamaldehitin de teratojenik etkisinin olabileceği ve gebelerde hematüri, silindüri, albüminüri, methemoglobinemi ve abortus gibi durumlara sebebiyet verebildiği rapor edilmiştir (Keller ve diğ. 1992).

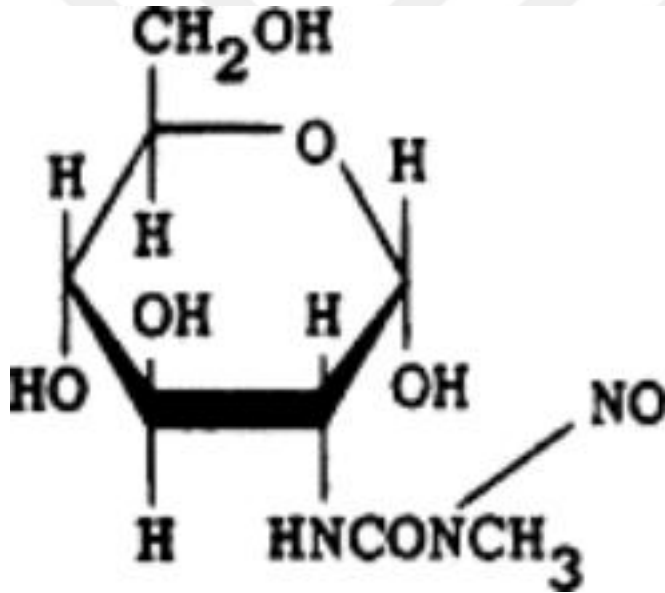
Safrol ve stiren diğer bileşiklere oranla çok daha az miktarda bulunmaktadır. Bu sebeple bu maddelerin toksik etki oluşturma ihtimali diğer bileşiklerinkine göre daha düşüktür. Safrolün sıçanlarda hepatokarsinojenik ve genotoksik etkileri belirlenmiştir. Kronik stiren maruziyetinde merkezi sinir sistemi rahatsızlıkları olarak baş ağrısı, depresyon ve periferel nöropati gözlemlenebilir (Rosemond ve diğ. 2010)

Ancak, tarçının yüksek dozlarının uzun süreli kullanımının insan sağlığı üzerindeki olumsuz etkileri hakkında toksikolojik, karsinojenik ve mutajenik açılardan yeterince

kapsamlı veri bulunmamaktadır. Günlük doz 2-4 gr olarak tavsiye edilmektedir (Çanaklı 2016).

1.2.8. Streptozotosin(STZ)

Streptozotosin, insülin salgılayan β -hücrelerde toksik etkiye sahiptir. Bu etkisi nedeniyle STZ, diyabet modelleri oluşturmak amacı ile çalışmalarda sıklıkla kullanılan bir ajandır. STZ ilk defa 1960 yılında, *Streptomyces achromogenes* kültüründen elde edilmiş, dar spektrumlu bir antibiyotiktir. Antibiyotik olarak kullanımı sırasında diyabetojenik özelliğinin olduğu fark edilmiştir (Cabadak 2008). Farklı dozlarda ve farklı uygulama teknikleri ile değişik diyabet modelleri oluşturulabilmektedir. Moleküler ağırlığı 265.2 kDa, formülü $C_8H_{15}N_3O_7$ olan STZ, Langerhans adacıklarındaki β -hücrelerine özgün bir toksisiteye sahiptir (Coşkun ve diğ. 2005).



Çizim 1. 7 . Streptozotosin' in kimyasal yapısı (Bolzan ve diğ. 2002)

STZ, açık sarı renkli, su ve alkolde çözünen, nem ve ışığa karşı duyarlı bir maddedir. Suda 4.5 pH değerinde çözünüp sabit kalırken başka pH derecelerinde hızla parçalanır. Antitümoral etkisinin olduğu ve kanserojen rol oynadığı bulunmuştur. Günümüzde ise diyabetojenik etkisinden yararlanılıp deneysel diyabet çalışmalarında kullanılmaktadır. Kan glikoz seviyesini yüksek sayılabilecek düzeye ulaştıran doz genelde 60-65 mg/kg' dır; ancak yapılacak çalışmanın süresinin uzunluğu ve alınmak istenen sonucun şiddeti göz önünde bulundurularak bu doz tekrar ayarlanabilir. Ayrıca STZ, 0°C' de alkalın solüsyonlarda diazometan ile yıkılabilir (HSDB 2001).

STZ uygulaması sonrası kan glikozunda trifazik bir cevap gözlenir. İlk 2 saat içerisinde kan şekeri yükselir. Gözlenen bu geçişi hiperglisemi durumu, karaciğerde glikojenin ani yıkımı nedeniyle olur ve STZ uygulaması öncesi hayvanın 12-18 saat süre ile aç bırakılması önlemi ile azaltılabilir ya da önlenir. Hiperglisemik bu dönemde plazma insülin seviyesi düşük seyrederek. Yaklaşık 6 saat sonra ikinci bir evre başlar. Bu evrede şiddetli bir hipoglisemi atağı izlenir. Genelde diyabetonejik ajan uygulamasının ilk 24 saati içinde gerçekleşen ölümlerin kaynağı bu hipoglisemik atak evresidir. Bu dönemdeki ölümlerin önüne geçilebilmesi adına hayvana bol miktarda su verilmesi tavsiye edilmektedir. Bu dönemde plazmadaki insülin seviyesi oldukça yüksektir. STZ enjeksiyonunu takip eden 10-12. saatlerde ise üçüncü evre başlar. Bu evreden itibaren plazmada düşük insülin düzeyi ve hiperglisemi gözlenir. Bu dönem aylarca devam eder (Rajasekaran ve diğ. 2005, Arulselvan ve Subramanian 2007).

STZ ile tetiklenmiş diyabetlerde libido, fertilité, proliferasyon yeteneği, testiküler sperm hareketliliği ve sayısı ile testiküler ağırlıkta belirgin bir düşüş gözlenir. Testisteki germ hücrelerinin sayısında azalma, Sertoli ve Leydig hücre vakoulizasyonu ve Leydig hücrelerinin sayı ve fonksiyonlarında azalma gözlenir. Seminifer tübüllerde insülin ve insülin benzeri büyüme faktörü-1 (ILGF-1), FSH reseptörlerinin yerleşim ve dağılımı da STZ etkisi ile değişir. LH, FSH ve testosteron düzeylerinde belirgin bir düşüş gözlemlenir. İnsüline duyarsız hale gelen hücrelerde gerçekleşen FSH azaması ile Leydig hücre fonksiyonu ve testosteron üretimi ve devamında da LH düşüşü ortaya çıkar. FSH seviyesindeki bu değişime bağlı olarak da sperm fertilitesi ile atılımında da azalma gözlenir (Altay ve diğ. 2003, Ballester ve diğ. 2004).

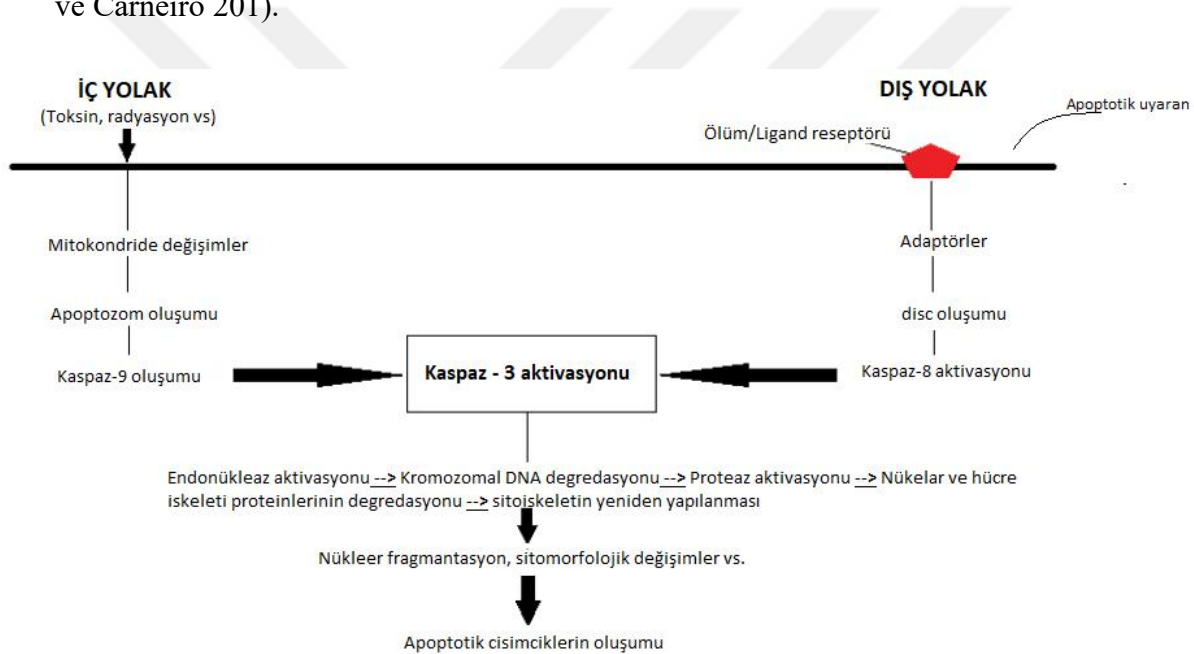
Özet olarak, yapılan çalışmalar gösteriyor ki, deneysel diyabet oluşturulan sıçanlarda ve diyabetik hastalarda lipid peroksidasyonu ile serbest oksijen radikallerinin artıyor ve oksidatif stres, diyabet etiyolojisi ve ilerlemesinde etkilidir. Uzamış oksidatif stres ve antioksidan kapasitesinde meydana gelen değişimlerin de diyabetiğin ortaya çıkarttığı kronik komplikasyonlarla yakından ilişkili olabileceği araştırmacılar tarafından vurgulanmaktadır (Altan ve diğ. 2006, Rajasekaran ve diğ. 2005, Coşkun ve diğ. 2005).

1.2.9. Apoptozis

Apoptozis, “programlı hücre ölümü” anlamına gelen bir terimdir. Hücre proliferasyonunun kontrolü veya DNA hasarlarına karşılık olarak kullanılan bir ölüm şekli olan apoptozis; nekrozun aksine genetik açıdan iyi kontrol edilen, organize, dokuların

sahip olduğu hücre sayısını kontrol altında tutmaya yarayan çok önemli ve özelleşmiş bir olaydır (Ross ve Romrell 2016).

Bir organizmanın canlılığının ve neslinin devamı için sahip olduğu genetik bilgilerin kodlandığı DNA molekülünde gerçekleşebilecek olan hasarlar genelde organizmada gerçekleşen yaşamsal faaliyetleri bozabilmekte ve hatta durdurabilmektedir. DNA hasarlarına dış etkenler (çevre kirliliği, kimyasal ajanlar, radyasyon vs) ya da iç etkenler (metabolik ürünler, serbest radikaller, DNA replikasyonu hataları vs) neden olmaktadır. Hücre DNA' sında oluşan hatalar tamir edilemiyorsa, hücrenin geri dönüşümsüz bekletilmesi (replikatif ölüm) veya apoptozis ile ortamdaki uzaklaştırılması meydana gelir. Plazma membranı hasarları ise genelde nekrotik ölüme sebebiyet vermektedir (Junqueira ve Carneiro 201).



Çizim 1. 8 . Apoptotik ölüm yolları (Morad 2010)

Hücre proliferasyonu ile hücre ölümü arasında homeostatik bir denge söz konusudur. Bu dengenin iyi düzenlenmesi, çok hücreli canlılarda embriyonik gelişim süreci, doku devamlılığı gibi yaşamsal önem arz eden tüm konularda çok elzemdir. Aşırı hücre artışı, apoptoz ile kontrol edilir (Ortiz ve diğ. 1996, Collins ve diğ. 1997). Menstrual siklus sırasında endometriyumdaki hormona bağımlı involusyon, sitokin azlığı sonrasında immün hücrelerinin ölümü, T-hücrelerinin timusta negatif seçilimi yolu ile ortadan kaldırılması gibi bir çok fizyolojik olayda apoptozis rol oynamaktadır. Yani; apoptozis ve mitoz canlı

dokularında daimi olarak bir denge halindedir. Yapılan birçok çalışma göstermiştir ki; apoptozis, genler tarafından kontrol edilen bir olaydır (Cohen 1993).

Apoptozis, testiküler dokuda sıklıkla karşılaşılan bir olaydır. Spermatogenez, spermatogonyal kök hücrelerden mayoz ve mitoz bölünmelerin sonucunda hücre farklılaşması ile olgun spermilerin oluşması olayıdır. Normal bir spermatogenez prosedürü içinde; hücre gelişimi ve farklılaşması haricinde germ hücrelerinin ölümüne de rastlanılır. Bu ölüm olayları, sperm oluşumunda çok önemli bir yere sahiptir (Sinha Hikim ve diğ. 1998, Sharpe 1994).

Spermatogenez olayında karşılaşılan apoptosiz genelde spermatosit ve spermatogonyumların ölümünde kendini gösterir. Germ hücrelerinde karşılaşılan bu ölüm, spermilerin normal gelişimi için kesinlikle gereklidir (Beumer ve diğ. 2000). Yapılan çalışmalar, testiste spontan apoptozisin devamlı olarak gerçekleştiğini göstermiştir (Kerr 1992). Testiste gerçekleşen fonksiyonu, morfolojisi ve genetiği bozulmuş olan spermilerin yok edilmesine yönelik apoptoza erkek germ hücrelerinin %75' i maruz kalır (Hsueh ve ark. 1996). Erken gelişimsel evrede başlayan apoptotik hücre seçilimi, olgunlaşma sürecindeki germ hücreleri ve Sertoli hücrelerinin arasında uygun bir sayısal oran yakalamaya yönelik fizyolojik bir cevap olarak açıklanmıştır (Ayaşhoğlu 2001, Hikim ve diğ. 1995). Androjen azlığında, azospermik veya oligospermik bireylerde, deneysel kriptorşidizm oluşturulan deney hayvanlarında ve sıcaklık artışı gibi durumlarda testislerdeki apoptozis olaylarında artış gözlemlenebilir (Davis ve Firlit 1986). Seminifer tübüllerin epitel yüzeyinin sıcaklığı, radyasyon ya da diyabet gibi etkilere bağlı olarak da apoptozis artış gösterebilir (Blanco-Rodriguez ve Garcia-Martinez 1998). Sonuç olarak, testis fizyolojisini bozan dış uyaranların varlığında, fizyolojik düzey haricinde apoptoz gerçekleşebilir. Bu duruma bağlı olarak da klinik açıdan spermatogenez işleyişinde bozulmalar ve hatta infertilite gözlemlenebilir (Kanter ve diğ. 2012, Korsmeyer 1995).

2. AMAÇ

DM dünyada yaygın bir sağlık problemi olup ciddi birçok yapısal ve işlevsel komplikasyonlar ile ilişkili metabolik bozukluktur. DM'un gerek insanlarda ve gerekse deney hayvanlarında cinsel ve üreme işlevleri üzerinde olumsuz etkilere sahip olduğu bilinmektedir (Sainio-Pollanen ve diğ. 1997, Sexton ve diğ. 1997, Meyer ve diğ. 2000).

DM, modern toplumlarda en büyük halk sağlığı tehditlerinden biridir. Dünyada artan DM insidansı kaçınılmaz olarak, üreme çağındaki erkeklerde bu patolojinin daha yüksek prevalansına neden olacak ve DM ile ilişkili kısırlık veya kısırlığın önümüzdeki yıllarda çarpıcı şekilde artması beklenmektedir (Alves ve diğ. 2013).

Diyabet, erkek infertilitesine doğrudan ya da dolaylı olarak etki eder. Kandaki yüksek glikoz seviyesi, testislerde üretilen spermilerin döllenmeyi engelleyecek kusurlara sahip olmasına neden olur. Spermatogenezin normal işleyişi diyabet tarafından sekteye uğratılabildiği bildirilmiştir (Benitez ve diğ. 1985, Sanguinetti ve diğ. 1995).

Aktaş ve diğ. (2011), deneysel diyabetin sıçanlarda testis proliferasyonları ve apoptozisi üzerine etkileri başlıklı çalışmalarında, diyabetin hücre proliferasyonundaki rolünü ve testiste apoptozu araştırmışlardır. Diyabeti tek bir intraperitoneal STZ (50 mg/kg) enjeksiyonu ile oluşturmuşlardır. Araştırmacılar, proliferatif hücre nükleer antijeninin (PCNA) immünohistokimyası, Hematoksilen ve Eozin boyama tekniklerini kullanılarak testis hasarını incelemişler ve apoptozu, terminal deoksiniükleotidil-transferaz aracılı dUTP nick ucu etiketlemesi (TUNEL) ile belirlemişlerdir. Seminifer tübüllerde sperm oluşumuyla ilişkili potansiyel bozukluklar Johnsen skoru kullanılarak değerlendirilmiştir. Ortalama seminifer tübül çapı (MSTD) ve ortalama testis biyopsi skoru (MTBS) değerleri, diyabetik grupta kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak azaldığı belirlenmiştir. Aktaş ve diğ. (2011)'nin sonuçları, diyabetik grupta testis dokularında PCNA'nın ekspresyonunda belirgin bir azalma ve TUNEL'in aktivitesinde bir artış olduğunu göstermektedir. Diyabetin spermatogenez üzerindeki etkileri, testis hücre ölümü ve MTBS, MSTD ve PCNA ekspresyonunda azalma açıkça tespit edilmiştir.

Alves ve diğ. (2013), testiste hücrelerin hormonal dalgalanmalara tepki veren ve hiperglisemik ve hipoglisemik olayları önlemek için çeşitli mekanizmalara sahip kendi glikoz algılama mekanizmaları olduğu, hücreler arasındaki metabolik işbirliğinin normal spermatogenez için çok önemli olduğu bildirilmiştir. Kan-testis bariyerinin ana bileşenleri olan Sertoli hücrelerinin sadece germ hücrelerinin fiziksel desteğinden değil, aynı zamanda gelişen germ hücreleri tarafından metabolize edilen laktat üretiminden de sorumlu olduğu;

bu bağlı metabolik işbirliğindeki herhangi bir değişikliğin erkek üreme potansiyelinde anlamlı sonuçları doğurabileceği ifade edilmiştir. Bu nedenle, erkek üreme sağlığındaki DM'nin klinik öneme sahip olduğunu düşünerek bu tezde STZ ile indüklenen diyabetik erkek sıçanların testislerinde oksidatif stres kaynaklı değişiklikler ve bunların Atorvastatin ve *Cinnamomum zeylanicum* ile tedavilerinin karşılaştırılması histolojik ve biyokimyasal yöntemlerle araştırılması planlandı.

Statin grubu ilaçlardan olan Atorvastatinin hiperlipidemi durumlarında sıklıkla kullanılıyor olmasından, tarçının da Atorvastatinin de uygulamasının ve ulaşılabilirliğinin kolaylığından ötürü bu çalışmamızda alternatif tedavi yaklaşımı olarak Atorvastatin ve tarçını seçtik.



3. YÖNTEM

3.1. Deneysel Çalışma Aşaması

3.1.1. Deney Hayvanları

Çalışma, Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi, Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu onayının ardından başladı. Çalışmada, 54 adet yaklaşık 24 haftalık erişkin, 350-400 gr ağırlığında Wistar Albino cinsi erkek sıçan kullanıldı. Çalışmaya alınan sıçanların tamamı KOÜ Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Birimi (DETAB)' dan alındı. Deney süresince sıçanların bakımı, KOÜ-DETAB bünyesinde bulunan sıçan takip odalarında yapıldı.

3.1.2. Laboratuvar Koşulları

Deney süresince sıçanların bulunduğu odaların sıcaklığı yaklaşık 22°C, 12 saat aydınlık 12 saat karanlık olarak ayarlandı. Sıçanların normal içme suyu olarak çeşme suyu, yemleri olarak da standart pellet ullanıldı. Deney boyunca gruplara ayrılan sıçanlar, Tip III kafeslerde barındırıldılar.

3.1.3. Deneysel Çalışma Planı

Elli dört adet Wistar Albino cinsi erkek sıçan rastgele gruplara ayrıldı(Çizelge 3.1)

- I. **Doğal-Kontrol grubu (n=7):** Bu gruba herhangi bir çözücü veya ilaç verilmedi. Hiçbir uygulama yapılmayan kontrol grubu.
- II. **Sitrat Tamponu grubu (n=7):** Streptozotosinin çözücüsü olan 10 ml Sitrat Tamponu, *i.p.* olarak verilerek streptozotosine ek bir etki edip etmeyeceğini gözlemek adına oluşturulan kontrol grubu.
- III. **Tarçın-kontrol grubu (n=7):** Sağlıklı sıçanlarda düzenli Tarçın tüketiminin etkisinin gözlemi için oluşturulan kontrol grubu. 4 g/kg çubuk tarçın kaynamış sıcak suda 24 saat bekletilerek içme sularına katıldı.
- IV. **Atorvastatin-kontrol grubu (n=7):** Sağlıklı sıçanlarda düzenli atorvastatin kullanımının etkisinin gözlemlenmesi için oluşturulan kontrol grubu. Sıçanların içme suyuna düzenli olarak her gün 20g/kg eklendi.
- V. **Diabetes Mellitus (DM) grubu (n=9):** Hiç bir tedavi yöntemi uygulanmayan, 35 mg/kg streptozotosinin Sitrat Tamponuda çözülerek *i.p.* enjeksiyonu ile diyabetik hale getirilen deney grubu. (Srinivasan ve diğ. 2005)

VI. **DM+Tarçın grubu (n=9):** STZ uygulamasıyla DM oluşturulan sıçanlarda diyabetin etkilerinin giderilmesinde salt tarçın kullanımının etkilerini gözlemek için oluşturulmuş deney grubu.

VII. **DM+Atorvastatin grubu (n=9):** STZ uygulamasıyla DM oluşturulan sıçanlarda diyabetin etkilerinin giderilmesinde salt atorvastatin kullanımının etkilerinin gözlemlenmesi adına oluşturulan deney grubu.

VIII. **DM+Atorvastatin+Tarçın grubu (n=9):** STZ uygulamasıyla DM oluşturulan sıçanlarda diyabetin etkilerinin giderilmesinde atorvastatin ve tarçın kombinasyonunun kullanılmasının etkilerini gözlemek için oluşturulmuş deney grubu.

Çizelge 3. 1. Deney öncesi sıçan gruplarının düzenlenmesi ve ortalama vücut ağırlıkları (X±SS).

Gruplar	Uygulama	Denek sayısı	Ortalama Vücut ağırlığı (g)
Doğal-Kontrol	Hiç bir müdahale yapılmadı.	7	346±12
Sitrat Tamponu-Kontrol	<i>i.p.</i> yolla 10 ml Sitraf Buffer enjeksiyonu yapıldı	7	334±24
Tar-Kontrol	İçme sularına Tarçınlı su eklendi(4 g/kg)	7	319±8
ATO-Kontrol	İçme sularına ATO eklendi(20g/kg)	7	346±13
DM	Tek doz <i>i.p.</i> 35mg/kg STZ	9	396±18
DM+Tar	Tek doz <i>i.p.</i> 35mg/kg STZ + 4g/kg Tarçın	9	395±9
DM+ATO	Tek doz <i>i.p.</i> 35mg/kg STZ + 20 g/kg ATO	9	429±16
DM+ATO+Tar	Tek doz <i>i.p.</i> 35mg/kg STZ + 20 g/kg ATO + 4g/kg Tarçın	9	408±21

Çalışmanın deney aşaması ve dokuların alınması sırasında işlemlerin tamamı KOÜ DETAB bünyesinde bulunan özel takip ve operasyon odalarında yapıldı. Uygulamalar iki

günde bir ve aynı saatlerde olacak şekilde tekrarlandı. Deney bitiminde sıçanlar ketamin-ksilazin anestezisi altında kalp kanı alınması suretiyle sakrifiye edildi.

3.1.4. Sıçanların Vücut Ağırlıklarının Ölçülmesi

Deney başlamadan bir haftalık adaptasyon sürecinin başında hayvanların vücut ağırlıkları gruplara verilecek Sitrat Tamponu, STZ, Atorvastatin, ve tarçın miktarlarını belirlemek için haftalık olarak ve deney sonunda tartılarak kaydedildi.

3.1.5. Glikoz Düzeylerinin Ölçümü

Glikoz düzeyleri, STZ enjeksiyonu öncesi, STZ enjeksiyonundan 1 hafta sonrası, deney süresince her hafta düzenli olarak ve sakrifiye etmeden önce ölçüldü. Kuyruk ucu kesilerek Optimum Xceed marka glüköz ölçücüye kan damlatıldı ve kan glikoz seviyeleri kaydedildi.

3.1.6. Dokuların Alınması

Tüm hayvanlar, 1 haftalık adaptasyon, (deney gruplarında +1 haftalık diyabetikleşme süreci) ve 10 haftalık tedavi döneminden oluşan toplamda 12 haftalık çalışma sonucunda derin anestezi (75mg/kg Ketamin + 15 mg/kg Ksilazin) altında kalp kanı alınması suretiyle sakrifiye edildi. Karın bölgelerinden yapılan kesi ile testisleri çıkarıldı. Tüm testisler hassas terazide tartıldı. Sağ testisler, biyokimyasal inceleme için ayrılırken sol testisler histolojik inceleme için Bouin fiksatifine alındı.

3.1.7. Testis Ağırlıklarının Ölçümü

Testis, etrafını saran dokulardan temizlendikten sonra her biri de Scaltec-SPB42 marka hassas terazi ile tartıldı. Her bir sıçanın sağ ve sol testis ağırlıkları kaydedildi.

3.1.8. Biyokimyasal Analizler

Deney sonunda kardiyak ponksiyon ile alınan kan örnekleri kırmızı kapaklı tüplere alınarak 10-15 dk oda sıcaklığında bekletildi. Ardından 3500 rpm'de 15 dk santrifüj edilerek serumu ependorflara alınarak analizler yapılıncaya kadar -40°C'de muhafaza edildi. Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı laboratuvarında serumda ve testis dokusunda MDA (Malondialdehit) ve testis dokusunda GSH (Glutatyon) seviyeleri çalışıldı. Kanda total kolesterol, testosteron, TAS (Total Antioksidan Seviyesi), TOS (Total Oksidan Seviyesi), OSİ (Oksidatif Stres İndeksi) düzeylerine bakıldı.

3.1.8.1. Kanda Total Kolesterol ve Testosteron Tayini

Kardiyak ponksiyon ile alınan kan örnekleri pıhtılaşma amacıyla 10-20 dk oda sıcaklığında bekletildi. 2000-3000 RPM'de yaklaşık 20 dk santrifüj edildi, süpernatantlar toplandı. Çıkarılan ekstrakt, -20°C'de saklandı. Elde edilen serumda total kolesterol ve testosteron seviyeleri rutin biyokimya otoanalizörü ile ölçüldü. Trigliserid ile HDL Kolesterol oranı otomatik online kalkulator kullanarak ölçüldü. (Kitin markası "Relassay"). (<https://www.relassay.com/product-detail-total-oxidant-status-assay-kit.html>)

3.1.8.2. Kan Analizleri (ELISA Test Protokolü)

ELISA(Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay) yönteminin prensibi, özgül antijen-antikor arasındaki reaksiyona dayanır.Bu teknikte işaretli antijen veya antikor tayin edebiliriz. İşaretli konjugatın hazırlanmasında işaretleyici olarak enzim kullanılır. Reaksiyon tamamlanmasından sonra ayırma işlemi yapılır ve ortama bir substrat ilave edilerek spektrofotometrik olarak enzim aktivitesi ölçülür.

Test Çalışma Prensibi

- Reaktif, örnek ve standart hazırlanır.
- Hazırlanan örnek ve standartlara biyotinli antijen eklenir ve 37°C altında 60 dk bekletilir.
- Plaka 5 kez yıkanır ve avidin-HRP eklenip tekrar reaksiyona sokulur.
- Plaka 5 kez yıkanır substrat A ve substrat B eklenip 37°C de 10 dk bekletilir.
- 10 dk sonunda stop solüsyonu eklenip OD(Optik Dansite) değeri ölçülür ve hesaplama yapılır.

Bileşenler

1. Standart	0.5ml x 6 tüp
2. Konsantre Biyotinli Antijen	18µl x 6 tüp
3. Konsantre Avidin-HRP	6µl x 1 şişe
4. Biyotinli antijen seyreltici	6ml x 1 şişe
5. Avidin-HRP seyreltici	6ml x 1 şişe

6. Substrat A	6ml x 1 şişe
7. Substrat B	6ml x 1 şişe
8. Stop solüsyonu	6ml x 1 şişe
9. Konsantre yıkama solüsyonu	(20ml*25 times) x 1 şişe

Numune-Örneklerin Çalışılması

Hazırlanan örneklerden 50 µl alınarak plakalara eklenir. Hazırlanan örnek ve standartlara tekrardan 50 µl biotinylated antijen eklenir ve 37°C altında 60 dk boyunca reaksiyona girer. 60 dk sonunda plaka 5 kez yıkanır ve avidin-HRP yi de aynı miktarda (50 µl) ekleyip tekrar 37°C de 60 dakika boyunca reaksiyonda bırakılır. 60 dk sonunda tekrar 5 kez yıkama işlemi gerçekleştirilir ve A ve B substratları eklenerek bu kez reaksiyona girmeden 37°C de sadece 10 dk bekletilir. 10 dk sonunda renklenme görülür ve 10 dk içinde stop solüsyonu eklenerek reaksiyon durdurulur okuma ve hesaplama yapılır (Kullanılan Kitin markası "Rel Assay").

Toplam Oksidan Durum Test Kiti

Reaktif oksijen ve azot türleri, metabolik ve fizyolojik işlemlerde üretilir ve onları enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan mekanizmalar yoluyla alan organizmalarda zararlı oksidatif reaksiyonlar oluşabilir. Belirli koşullar altında, oksidanlardaki artış ve antioksidanlardaki azalma önlenemez.

Farklı oksidan türlerin serum (veya plazma) konsantrasyonları laboratuarlarda ayrı ayrı ölçülebilir, ancak ölçümler zaman alıcı, emek yoğun ve masraflıdır ve karmaşık teknikler gerektirir. Farklı oksidan moleküllerinin ayrı ayrı ölçümü pratik olmadığından ve oksidan etkileri katkı maddesi olduğundan, bir numunenin toplam oksidan durumu (TOS) ölçülür ve buna toplam peroksit (TP), serum oksidasyon aktivitesi (SOA), reaktif oksijen metabolitleri (ROM) adı verilir. Testte, numunede bulunan oksidanlar, demir iyon-şelatör kompleksini demir iyona okside eder. Oksidasyon reaksiyonu, reaksiyon ortamında bol miktarda bulunan arttırıcı moleküller ile uzar. Ferrik iyon, asidik ortamda kromojen ile renkli bir kompleks oluşturur. Spektrofotometrik olarak ölçülebilen renk yoğunluğu, numunede bulunan toplam oksidan molekül miktarı ile ilgilidir. Deney, hidrojen peroksit ile kalibre edilir ve sonuçlar litre başına mikromolar hidrojen peroksit eşdeğeri cinsinden ifade edilir (µmol H₂O₂ Equiv./L).

Toplam Antioksidan Durum Test Kiti

Reaktif oksijen türleri (ROS) metabolik ve fizyolojik işlemlerde üretilir ve bunları enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan mekanizmalar yoluyla alan organizmalarda zararlı oksidatif reaksiyonlar oluşabilir. Belirli koşullar altında, oksidanlardaki artış ve antioksidanlardaki azalma önlenemez.

Antioksidan moleküller, bu zararlı reaksiyonları önler veya inhibe eder. Farklı antioksidanların serum (veya plazma) konsantrasyonları laboratuvarlarda ayrı ayrı ölçülebilir, ancak ölçümler zaman alıcı, emek yoğun, maliyetli ve karmaşık teknikler gerektirir. Farklı antioksidan moleküllerin ölçüm ölçümü ayrı olarak pratik olmadığından ve antioksidan etkileri katkı maddesi olduğundan, bir numunenin toplam antioksidan kapasitesi ölçülür ve buna toplam antioksidan kapasite (TAC), toplam antioksidan aktivite (TAA), toplam antioksidan güç denir (TAOP), toplam antioksidan durumu (TAS), toplam antioksidan cevap veya diğer eş anlamlılar.

Testte, numunedeki antioksidanlar koyu mavi-yeşil renkli ABTS radikalini renksiz indirgenmiş ABTS formuna indirger. 660 nm'de absorbans değişimi, numunenin toplam antioksidan seviyesi ile ilgilidir. Test, geleneksel olarak E vitamini analogu olan Trolox Eşdeğeri olarak adlandırılan stabil bir antioksidan standart çözeltisi ile kalibre edilir.

3.1.8.3. Doku Analizleri:

Doku homojenizasyonu: Sıçan testis dokularında MDA, GSH ve protein tayini için dokular tartılarak üzerine 1/10 (ağırlık/volüm) oranında PBS (0,1 M / pH 7,4) eklenip doku homojenizatörü ile homojenize edildi (Calkins ve diğ.2001). Homojenatlar 15dk 3500 rpm'de santrifüj edilerek süpernatantları ayrıldı ve eppendorflara alınarak -40°C de analiz edilecek zamana kadar saklandı (Kim ve diğ, 2016)

Doku protein tayini: Total protein tayini Lowry modifiye metoduyla yapıldı(Hatree 1972). Analiz edilecek parametrelerin doku sonuçları, doku protein miktarına oranlanarak tayin edildi.

Alkali ortamda bakır iyonu (Cu^{+2}) proteinlerdeki peptid bağları ile bir kompleks oluşturur ve Cu^{+1} e indirgenir. İndirgenmiş bakır ve proteinlerin yan zincirinde yer alan Tyr, Trp ve Cys aminoasitleri Folin-Fenol reaktifini indirgeyerek renk oluşumuna neden

olur . Oluşan rengin şiddeti protein konsantrasyonu ile doğru orantılıdır ve 660 nm'de spektrofotometrik olarak ölçülür.

Örnekler : 1/10 dilüsyonla hazırlanmış homojenat santrifüjlenir ve 1/40 serum fizyolojik(SF) ile bir kez daha dilüe edilir.

Standart çözelti: 1mg/ml olacak şekilde bovin serum albumin (BSA) çözeltisi hazırlanır. 10mg BSA tartılarak üzerine 10ml SF eklenir.

Ayıraç A : %2 Na₂CO₃ (0,1N NaOH içinde çözülerek hazırlandı).

0,4g NaOH 100ml'lik balon joje içerisinde distile sui le hazırlandı. 2g Na₂CO₃ tartılarak çözülmüş NaOH bulunan balon jojeye konuldu ve çözülerek son hakim 100ml'ye tamamlandı.

Ayıraç B: % 2 Na-tartarat, B reaktifi ve %2 CuSO₄.5H₂O karışımıdır.

0,2g Na-K tartarat 10ml'lik balon joje içerisinde distile su ile hazırlandı. 0,1g CuSO₄ 10ml'lik balon joje içerisinde distile su ile hazırlandı. 1ml %2'lik Na-K tartarat, 1ml %1'lik CuSO₄ ve 98ml ayıraç A karıştırılarak ayıraç B hazırlandı.

Folin ayıracı (2N): Hazır alınan folinden 2N hazırlandı.

Uygulama Basamakları

1. 50µL doku homojenatı örnek tüpüne ve her bir standart tüpüne seri dilüsyon yapılacak şekilde 50µL standart çözelti eklendi. Üzerlerine 50µL SF eklendi. Kör tüpüne de 100µL SF eklendi.
2. Tüm tüplere 1mL B reaktifi eklendi.
3. Oda sıcaklığında 10 dakika bekletilir.
4. Tüm tüplere 50 µL Folin reaktifi eklenir ve vortekslenir.
5. Tüm tüpler karanlıkta oda sıcaklığında 45 dakika bekletilir.
6. Absorbanslar 660 nm'de köre karşı okunur.
7. Protein miktarları oluşturulan standart kalibrasyon grafiğinden yararlanarak ve dilüsyon katsayıları hesaba katılarak hesaplanır.

Malondialdehid (MDA) düzeylerinin tayini: MDA, oksidatif stres için kullanılan markerlardan biridir. Lipit peroksidasyon ürünü olan MDA, tiyobarbitürik asit (TBA) ile reaksiyona girerek 535 nm'de maksimum absorbans veren pembe renkli bir kompleks

oluşturur. Bu kompleksin renk şiddeti spektrofotometrik olarak ölçülerek, örnek içindeki MDA konsantrasyonu tayin edilir. MDA, testis dokusunda ve serum örneklerinde ölçüldü (Buege ve Aust 1978). MDA düzeyleri Draper ve Hadley'in çift ısıtma metodu ile ölçüldü ve sonuçlarda proteinin her gramı nanomol olarak ifade edildi (Draper ve diğ.1990).

Deneyin yapılışı:

- I. Tetraetoksipropan standart çözeltisi (20mmol/L): 0,494ml Tetraetoksipropan ($C_{11}H_{24}O_4$) 100ml absolut etanolde eritilerek 20mmol/L' lik stok standart çözeltisi hazırlandı. Bu stok çözeltiden 0,1ml alınarak tridistile su ile 100ml'ye tamamlandı ve 20 μ mol/L'lik çalışma standart çözeltisi elde edildi.
- II. 0.375% TBA, 15% TCA (Trikloroasetik asit) ve 0,25N HCl karıştırılarak TBARS ayırıcı hazırlandı.

Numune tüplerine 0,5 ml plazma ve doku homojenatı, kontrol tüpüne ise 0,5 ml distile su eklendi. Standart tüplerine bir dizi dilüsyonu yapılarak 0,5ml TEP çözeltisi eklendi. Bütün tüplere TBARS ayırıcından 2ml eklendi. Tüpün ağızları kapatılıp +90Cdeki su banyosunda 15 dk bekletildi. Sonra çıkartılarak bütün tüpler soğuk su altında soğutuldu ve 3000 devir/dk da 10 dk santrifüj edildi. Üstteki süpernatantlar spektrofotometrede 532 nmde kontrole(kör) karşı numunenin absorbansı ölçüldü. 20 μ mol/L' lik tetraetoksipropan çalışma standart çözeltisi ile 1, 2, 4, 5, 10 μ mol/L'lik dilusyonlar hazırlanarak kalibrasyon grafiği çizildi. Bu grafikten yararlanılarak MDA değerleri μ mol/L olarak verildi.

Glutathione (GSH) düzeylerinin tayini : GSH hücrelerinin redoks dengesini koruyan oksidatif hasarı önleyen bir antioksidandır ve oksidatif strese karşı hücrenin en önemli savunma mekanizmalarından biri olarak kabul edilmektedir. Hidroperoksitlerin nötralizasyon ve proteinlerin fizyolojik sülfidril durumunun korunması da sağlamaktadır. Non-protein sülfidril gruplarının tümü redükte glutatyon formundadır. 5,5'-ditiyobis (2-nitrobenzoik asit) DTNB disülfid bir kromojendir ve sülfidril grubu içeren bileşiklerle kolayca redükte olarak koyu sarı renkli bir bileşik oluşturur. Bu redükte kromojenin 412 nm'de ölçülen absorbansı GSH konsantrasyonu ile direk orantılıdır (Ellman 1959). Sağ testis dokuları, -40°C'de derin dondurucuda muhafaza edildikten sonra örneklerinin protein içeriği Lowry method ile tayin edildi (Lowry ve diğ.1951) ve doku GSH düzeyleri belirlendi.

Testin Prensipleri: GSH konsantrasyonu Beutler ve diğ. (1963)' nın klasik DTNB metodu doğrultusunda 5'5'-ditiyobisnitrobenzoik asit ile oluşan renk ölçülür. Bu yöntemde -SH

taşımayan tüm proteinler çöktürülerek, elde edilen berrak sıvıda, - SH gruplarının DTNB ile oluşturduğu sarı renkli kompleks, 412 nm dalga boyunda kolorimetrik olarak ölçülür.

Kullanılan Ayıraçlar:

Presipitasyon çözeltisi: Bir beher içine 1.67g Metafosforik asit, 0.2g EDTA, 30g NaCl eklendikten sonra distile su ile 100ml' ye tamamlandı.

Disodyum fosfat çözeltisi: 0.3M Na₂HPO₄ hazırlandı. 42.59g Na₂HPO₄ 1000ML'LİK balon joje içerisinde distile sui le hazırlandı.

ELLMAN renk ayıracı: 40mg DTNB, %1 Sodyum Sitrat çözeltisi eklenerek 100 ml'lik balon jojede hazırlandı.

GSH standard (0,1 mg/ml): 1mg glutatyon 10ml distile su ile çözülerek hazırlandı. stabil olmadığı için taze hazırlanır.

Testin Yapılışı: Analiz için; kör, standart ve numune tüpleri hazırlandı. Standart tüpe 500µl standart, numune tüpüne 500µl örnek konulduktan sonra her iki tüpe 1,5ml KCl ve 3ml presipitasyon solüsyonu eklendi. Kör tüpüne ise; 2ml KCl ve 3 ml presipitasyon solüsyonu konuldu. Hazırlanan tüpler 3000 rpm'de 10dk santrifüj edildi. 500 µl süpernatant alındı ve üzerine 2ml fosfat çözeltisi ve 0,5ml Ellman ayıracı (DTNB (5-5'-dithiobis (2-nitro benzoik asit) eklendikten sonra 412 nm' de okundu.

Kullanılan Cihazlar

- IKA T18 Digital ULTRA TURRAX homojenizatör
- Alisei Quality System Seac Radim Company analyser (Italy/Rome)-ELISA READER
- UVmini-1240 UV-VIS Spectrophotometer- SHIMADZU
- Cam deney tüpleri
- Vorteks
- Otomatik pipetler
- Su banyosu

3.1.9. Işık Mikroskopik Çalışmalar

Dokuların takip, kesit alma ve boyama işlemleri KOÜ Tıp Fakültesi Histoloji-Embriyoloji Ana Bilim Dalı laboratuvarında yapıldı. Sıçanlardan alınan sol testisler doku

takipleri yapılmak üzere hemen Bouin solüsyonuna alınarak 48 saat süreyle fiksasyon uygulandı.

3.1.10. Bouin Fiksatifinin Hazırlanışı (University of Utah)

Testis dokularının tespitinde kullanılacak olan Bouin fiksatif, deneyin sonlandırılacağı sabah taze olarak aşağıdaki formüle göre hazırlandı:

- Doymuş pikrik asit çözeltisi (225 ml)
- %40' lık tamponlanmış Formaldehit (75 ml)
- Glasiyal Asetik Asit (15 ml)

3.1.11. Doku Takibi

Daha sonra derecesi yükselen etil alkol serilerinden geçirelerek dehidratasyon sağlandı ve aşağıdaki işlemler uygulanarak parafin impregnasyonundan sonra parafin bloklara gömüldü:

1. %70' lik alkol12 saat(2 kez)
2. %80' lik alkol12 saat(2 kez)
3. %90' lık alkol.....12 saat
4. %96' lık alkol.....12 saat
5. %100' lük alkol (1).....16 saat
6. %100' lük alkol (2).....2 saat
7. Ksilen.....5 dakika (3 kez)
8. Ksilen-Parafin (1:1).....30 dakika
9. Parafin.....50 dakika
10. Dokular bloklandı

3.1.12. Kesitlerin Alınması

Kesitler, KOÜ Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı laboratuvarında Leica SM2000 R mikrotom yardımıyla, dokunun başlangıcına kadar 20mm' lik kesitlerle trimlendi; dokuya ulaşıldığında 4-6mm' lik seri kesitler alındı. Her bir testisten 10'ar kesit atlanarak 5'er preparat hazırlandı (Yüncü ve diğ. 2015). Kesitler, 45°C' ye ayarlanmış sıcak su banyosunda parafin kesitlerin kırışıklıkları açılıncaya kadar bekletilerek Hematoksilen ve Eozin (H&E) boyaması için normal lam, TUNEL boyaması için de polysine kaplı özel lamlara alındı.

3.1.13. Hematoksilen - Eozin (H&E) Boyama Yöntemi

Kesit alma işlemi tamamlandıktan sonra normal lamlara alınan dokular, H&E boyaması yapılmak üzere çelik lam boyama sepetlerine alındı. Parafinin erimesi için 1 saat süreyle 58°C'ye ayarlanmış etüvde bekletildikten sonra sırasıyla boyama setinde şalelerde yer alan aşağıdaki işlemlere tabi tutuldu:

1. Ksilen.....5 dakika
2. Ksilen.....5 dakika
3. %100' lük alkol.....5 dakika
4. %96' lık alkol.....5 dakika
5. %70' lik alkol.....5 dakika
6. Distile su.....2-3 dakika
7. Hematoksilen.....35 saniye
8. Musluk suyu.....5 dakika
9. Asit akol.....1 kez batır-çıkart
10. Distile su.....1 dakika
11. Amonyaklı su.....10 saniye
12. Distile su.....1 dakika
13. Eozin.....30 saniye
14. Distile su.....1 dakika
15. %70' lik alkol.....5 dakika
16. %96' lık alkol.....5 dakika
17. %100' lük alkol.....5 dakika
18. Ksilen.....5 dakika
19. Ksilen.....5 dakika
20. Entellan ile kapatıldı

Hazırlanan preparatlarda seminifer tübüllerin çapı, Leica Marka Kameralı Işık Mikroskopunda, LasX programı yardımıyla ölçüldü. Ölçümlerin ortalamaları ve standart sapmaları (SS) hesaplandı. Seminifer tübüllerin spermatogenik hücreleri, interstisyel alanlar incelendi, fotoğrafları çekildi.

Testis biyopsileri farklı histopatolojik paternlere göre aşağıdaki şekilde sınıflandırıldı (Nistal ve Paniagua, 1999):

1. *Normal Spermatogenez:* Seminiferous tübüller ince bir bazal membran ile çevrilidir ve germinal epitel spermatogonia'dan spermatositlere, spermatid ve spermazoonlar ile normal gelişim gösterirler.
2. *Hipospematogenez:* Germinal epitel azalmış olarak germ hücrelerinin bütün evrelerini gösterir.
3. *Germ hücre maturasyon arresti:* Spermatogenezin belirli bir aşamasında kalmış birincil ya da ikincil spermatositler gözlenir.
4. *Sadece Sertolinin olması sendromu:* Tübüllerde yalnızca Sertoli hücreleri gözlenirken spermatogenezle ait herhangi bir hücreye rastlanmıyor.
5. *Seminifer tübül hiyalinizasyonu:* Tübüller kalınlanmış bir basal membrana sahip olarak gözlenir. Germinal epitelyuma rastlanmaz.
6. *Karışık desen:* Aynı testis biyopsisinde farklı istopatolojilere rastlanılır.
7. *Uyumsuz desen:* Sağ ve sol testislerde uyumsuz farklı histopatolojik desenler gözlenir.

Çeşitli histopatolojik paternler için olgu sayısı ve yüzdeleri hesaplandı. Olguların histopatolojik desenlerine göre sınıflandırılmasının yanı sıra, Modifiye Johnson skorlama sistemine göre de derecelendirildiler (Holstein ve ark. 2003). Bu skorlama sistemine göre, testis biyopsileri daha fazla değerlendirildi ve 1 ile 10 arasında bir puan verildi. Modifiye Johnson skorlaması aşağıdaki gibi uygulandı:

- Skor 10: Full spermatogenez gözlenir.
- Skor 9: Fazla sayıda geç evre spermatidler ve tamamlanamamış spermatogenezler gözlenir.
- Skor 8: Her tübülde 5' ten daha az spermatozoolar ve az miktarda geç evre spermatid gözlenir.
- Skor 7: Bir çok erken spermatid var ancak hiç spermatozoolar ya da geç evre spermatid yok.
- Skor 6: Az sayıda erken evre spermatid gözlenirken geç evre spermatid ya da spermatozoa gözlenmez
- Skor 5: Fazla sayıda spermatosit gözlenir ancak hiç spermatozoa ya da spermatide rastlanmaz
- Skor 4: Az sayıda spermatosite rastlanırken hiç spermatozoa ya da spermatid gözlenmez.
- Skor 3: Sadece spermatogonyalara rastlanır.
- Skor 2: Sadece Sertoli hücreleri varken hiç germinal epitel hücrelerine rastlanmaz.
- Skor 1: Hiç seminifer epiteline rastlanmaz.

Her vakada bulgular labratuvar tez takip defterine kaydedildi ve istatistiksel olarak değerlendirildi.

3.1.14. TUNEL Metodu (Terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP transferase-mediated Nick End-Labeling)

Apoptotik hücredeki fraksiyonların ortaya konulup sayılabilir hale getirilmesini sağlayan ilk yöntem “Terminal deoksiniükleotidil transferaz (Tdt-) aracılı dUTP-biotin çentikli uç-etiketleme” (TUNEL) metodudur (Gavrieli ve diğ. 1992). Bu tepkimede sadece apoptotik hücre çekirdekleri boyanır. Bu yöntem, deoksiniükleotidil transferaz (Tdt) ‘nin “polideoksiniükleotid” polimeri sentezi sonrasında DNA’ nın 3’-OH uçlarına özgün bağlanması temeline dayalıdır. Kesitlerde, nükleus DNA’ sı ilk olarak proteolitik bir işleme maruz bırakılır ve terminal Tdt, DNA fragmantasyonlarının olduğu yerlerde biyotinli deoksiüridini birleştirmek üzere kullanılır (Gavrieli ve diğ. 1992, Negoescu ve diğ. 1999). Serbest haldeki nükleotidler, digoksinin konjugat eklemesi ile bir oligomer oluşturur. Ardından, digoksin ile konjuge olan nükleotidler, anti-digoksin antikoru ile bağlanır. Böylelikle, peroksidaz antikoru, immünohistokimyasal olarak hassas bir görünüm veren kromojenik substrat bağlanması gerçekleştirir. Sonuçta, apoptotik cisimciklerde fazlasıyla bulunan 3’-OH uçları oldukça hassas ve özgün bir şekilde boyanarak görünür hale gelmiş olur (Sgonc ve diğ. 1994).

H&E kesitlerinin devamı olan ardışık parafin kesitlere terminal dUTP nick end labelling (TUNEL) yöntemi aşağıdaki sıraya göre ve TUNEL kiti (Millipore S7101) protokolüne göre uygulandı.

1. Etüvde 56°C’ de 1 saat
2. Toluene 3X5 dk
3. %100 alkol2X5 dk
4. %96 alkol3 dk
5. %90 alkol3 dk
6. %70 alkol3 dk
7. PapPen ile işaretleme
8. PBS.....5 dk
9. ProteinazK.....15 dk
10. dH₂O.....2X2 dk

11. Quenching (36 ml PBS + 4 ml %35' lik H₂O₂).....5 dk
12. PBS.....2X5 dk
13. Equilibration buffer.....10 dk
14. TdT labelling buffer (37°C' de nem kutusunda).....1 saat
15. TdT stop buffer.....10 dk
16. Anti-digoksinin.....30 dk
17. PBS.....4X2 dk
18. DAB (DAB dilution buffer 0,147 ml + DAB substrat 0,003 ml) mikroskop altında boyanması takip edildi
19. dH₂O.....3X1 dk
20. Methyl Green ile fon boyama.....10 dk
21. dH₂O
 - i. 10 kez daldır çıkar
 - ii. 10 kez daldır çıkar
 - iii. 30 sn beklet
22. %100 N-Butanol
 - i. 10 kez daldır çıkar
 - ii. 10 kez daldır çıkar
 - iii. 30 sn beklet
23. Toluen'de saydamlaştırma.....2X10 dk
24. Entellan ile lamel kapatıldı.

3.1.15. Apoptotik İndeksin (AI) Hesaplanması

Apoptotik index, 400x büyütmede TUNEL (+) hücrelerin, toplam hücre sayısına bölünmesi ile her bir kesitteki apoptotik indeks hesaplandı . Kontrol ve deney gruplarına ait kesitlerde toplamda 200' er hücre sayılarak hesaplandı (Yuluğ ve diğ. 2013).

3.1.16. İstatistiksel Analizler

Verilerin istatistiksel analizlerinde IBM SPSS version 20 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) kullanıldı. Normal dağılıma uygun olup olmadığı Kolmogorov-Smirnov Testi ile değerlendirildi. Hayvanların grupları arasındaki farklılık normal dağılıma sahip olduğundan nümerik değişkenler için tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve paired T-test ile değerlendirildi. Her gruba ait sayısal veriler, Standart Sapma (SS) olarak hesaplandı; tek yönlü varyans analizi ile karşılaştırıldı. Tüm karşılaştırmalarda $p < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

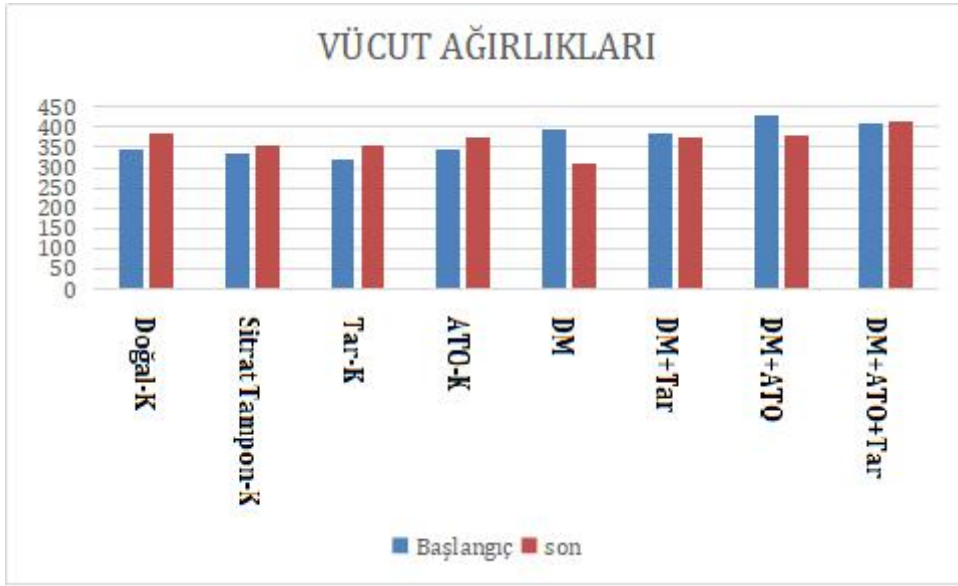
STZ enjekte edilen diyabetik sıçanlarda poliüri, polidipsi ve düşük vücut ağırlıkları ile karakterize diyabet semptomları gözlemlendi. Diyabet grubunda son haftalarda 4 hayvan kaybı gözlemlendi. Sıçanların ağırlıkları ve kan şekerleri deney başında ve deney süresince düzenli aralıklarla ölçüldü. Sıçanlar sakrifiye edildikten sonra testisleri hassas terazilerde ölçüldü.

4.1. Vücut Ağırlıklarının Zamana Bağlı Olarak Değişimi

Kontrol ve DM grupları arasında vücut ağırlıkları karşılaştırıldığında DM grubunda görülen düşüş istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0.05$). Deney sonunda vücut ağırlıkları Doğal- K grubunda 383 ± 27.50 g, Sitrat Tamponu- K grubunda 353 ± 50.40 g, Tar-K grubunda 354 ± 31.80 g, ATO-K grubunda 373 ± 30.30 g iken DM grubundaki sıçanların ortalama ağırlıkları 310 ± 44.60 g bulundu. Tedavi gruplarından DM+Tar grubunda 373 ± 50.40 g, DM+ATO grubunda 381.80 ± 80 g, DM+ATO+Tar grubunda 416 ± 47.36 g olduğu gözlemlendi. Yani Doğal-K grubunda 38 g, Sitrat Tamponu-K grubunda 20 g, Tar-K grubunda 36 g ve kombine tedavi grubunda 8 g ağırlık artışı vardı. Ağırlık kaybı ise DM grubunda 85 g, DM+Tar grubunda 12 g, DM+ATO grubunda 46 g. olarak saptandı (Çizelge 4.1, Çizim 4.1).

Çizelge 4. 1. Deney boyunca sakrifiye edilmeden önce sıçanların vücut ağırlıkları ve standart sapmaları, $X \pm SS$ görülüyor (Adaptasyon dönemi hayvanların gruplara ayrıldığı bir haftalık zamanı; Müdahale döneminde 2.gruba Sitrat Tamponu, 5-8. gruba STZ verildiği dönemi, Tedavi 1-10 ise 10 haftalık Atorvastatin ve Tarçın tedavisini ifade ediyor.

Grup	adaptasyon	tedavi 1.	tedavi 2	tedavi 3	tedavi 4	tedavi 5	tedavi 8	tedavi 10(Kesim)
Doğal-K(n=7)	345±30,6	357	362	356	368	372	382	383±27,5
Sitrat Tampon-K(n=7)	333±42,4	342	340	338	341	340	355	353±50,4
Tar-K(n=7)	318±19,7	325	329	328	337	335	352	354±31,8
ATO-K(n=7)	346±40,9	354	345	345	358	357	349	373±30,3
DM(n=9)	395±39,7	370	367	352	345	338	320	310±44,6
DM+Tarçın(n=9)	385±31,3	395	393	391	390	388	380	373±50,4
DM+ATO(n=9)	427±69,1	417	415	405	402	400	386	381±80
DM+ATO+Tar(n=9)	408±28,5	418	410	415	408	405	408	416±47,36



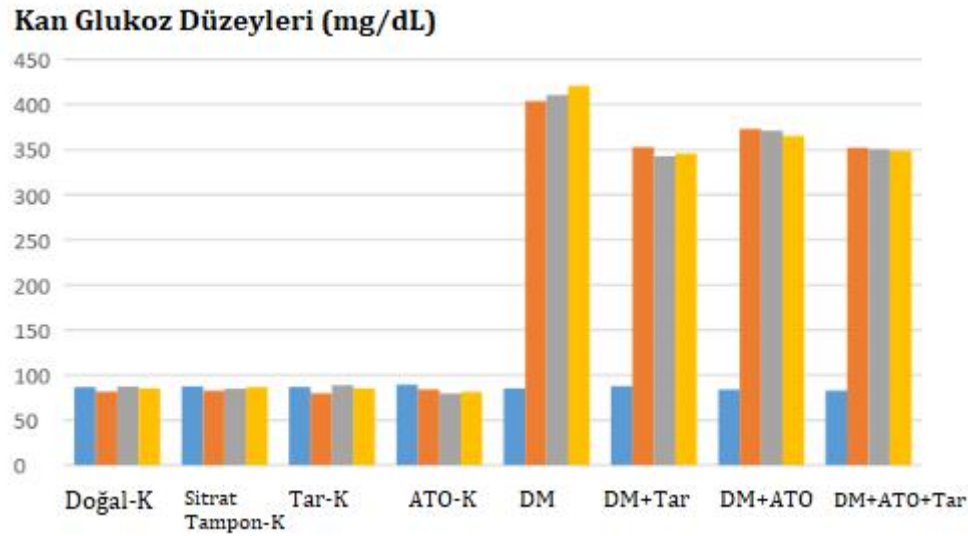
Çizim 4. 1. Deney boyunca kontrol ve deney grubu sıçanların vücut ağırlıklarında gözlenen zamana bağlı değişimin grafiği (g). $p < 0.05$; *DM grubu ile kontrol grupları arasında fark var.

4.2. Atorvastatin, Tarçın ve Kombine Tedavinin Glikoz Seviyeleri Üzerine Etkisi

Kontrol, diyabet ve tedavi gruplarında deney öncesi, STZ enjeksiyonunda 1 hafta sonra, 3 hafta sonra ve 10 hafta sonra kan glikoz değerleri glikometre ile ölçüldü (Çizelge 4.2). Diyabetli deneme grupları ile kontrol grubu karşılaştırıldığında kan glikoz değerlerinde anlamlı bir artış saptandı ($p < 0.05$). Diyabet oluşturulan gruplarda STZ' nin (35 mg/kg, i.p.) tek doz enjeksiyonu ile bu hayvanların % 91' inde yüksek kan glikoz seviyeleri ($> 350 \text{ mg/dL}$) ölçüldü. Doğal-K, Sitrata Tamponu-K, Tar-K ve ATO-K gruplarında kan glikoz seviyeleri ile diyabetik gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık vardı (Çizelge 4.2). STZ enjeksiyonu sonrası 1., 3., 10. haftalarda yapılan ölçümlerde özellikle DM grubunda kan glikoz seviyelerinde sürekli yükselme ve kontrol gruplarına göre anlamlı bir artış saptandı ($p < 0.05$). 10. haftanın sonunda en fazla düşüş tedavi gruplarımızdan DM+Tar grubunda gözlemlendi. Bununla beraber bu düşüş, istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (Çizelge 4.2, Çizim 4.2).

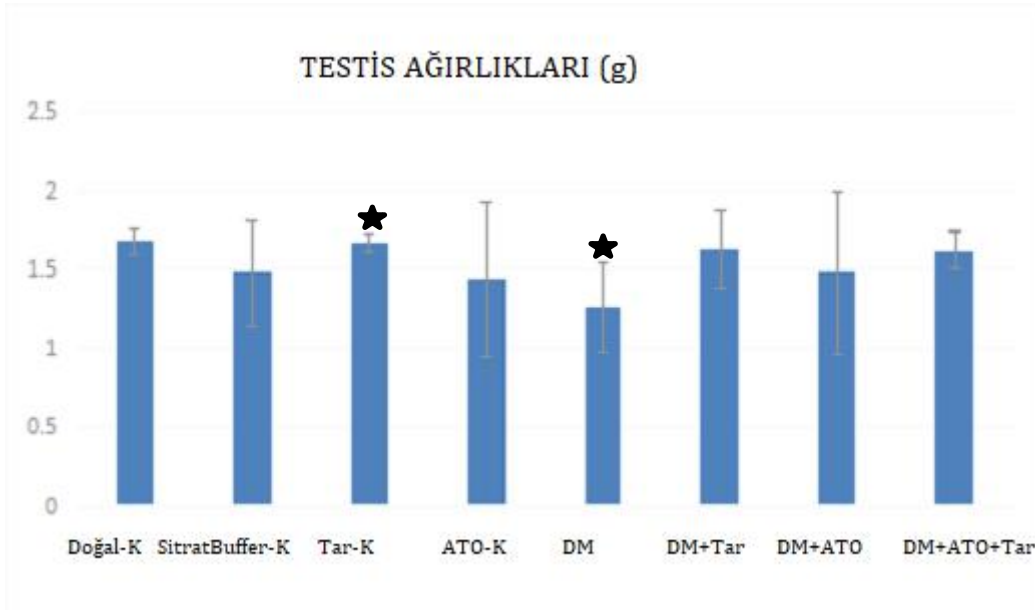
Çizelge 4. 2. Kontrol ve deney grubu sıçanlarının deney öncesi, STZ enjeksiyonundan 1 hafta, 3 hafta ve 10 hafta sonra kan glukoz düzeyi ölçümleri (X±SS) (mg/dL).

Kan Glukoz düzeyleri	Başlangıç	STZ enj.dan sonra		
		1. Hafta	3. Hafta	10. hafta
Doğal-K	86,6±12,8	81,6±14,2	87,2±13,4	85,4±14,7
Sitraf Tampon-K	87,3±11,9	82,7±9,5	85,1±8,9	86,5±10,6
TAR-K	86,7±9,4	79,6±9,6	88,6±7,2	85,4±8,7
ATO-K	89,3±8,4	84,2±10,3	79,4±12,6	81,3±11,2
DM	85,4±6,9	403,6±31,6	410,5±26,2	420,6±21,6
DM+Tar	87,6±8,7	352,8±28,7	342,8±24,6	345,6±26,1
DM+ATO	84,1±10,2	372,6±33,6	370,9±29,8	365,2±24,6
DM+ATO+Tar	82,8±11,2	352,2±26,6	350,4±22,3	348,7±26,3



Çizim 4. 2. Kontrol ve deney grubu sıçanlarının deney süresince yapılan kan şekeri ölçümlerinin gruplar arası karşılaştırıldığı grafik. $p < 0.05$; * Kontrol gruplarıyla diğer gruplar arasında fark saptandı.

Tüm gruplara ait testis ağırlıklarının ortalamaları ve standart sapmaları hesaplandı, DM grubu kontrollere göre düşük olmakla beraber anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p > 0.05$). En yüksek testis ağırlıkları sırasıyla Doğal-k, Tar-k, DM+Tar, DM+ATO+Tar gruplarındaydı. En düşük testis ağırlığının DM grubunda olduğu gözlemlendi; DM ve Tar-K grupları arasında fark saptandı ($p < 0.05$) (Çizim 4.3).

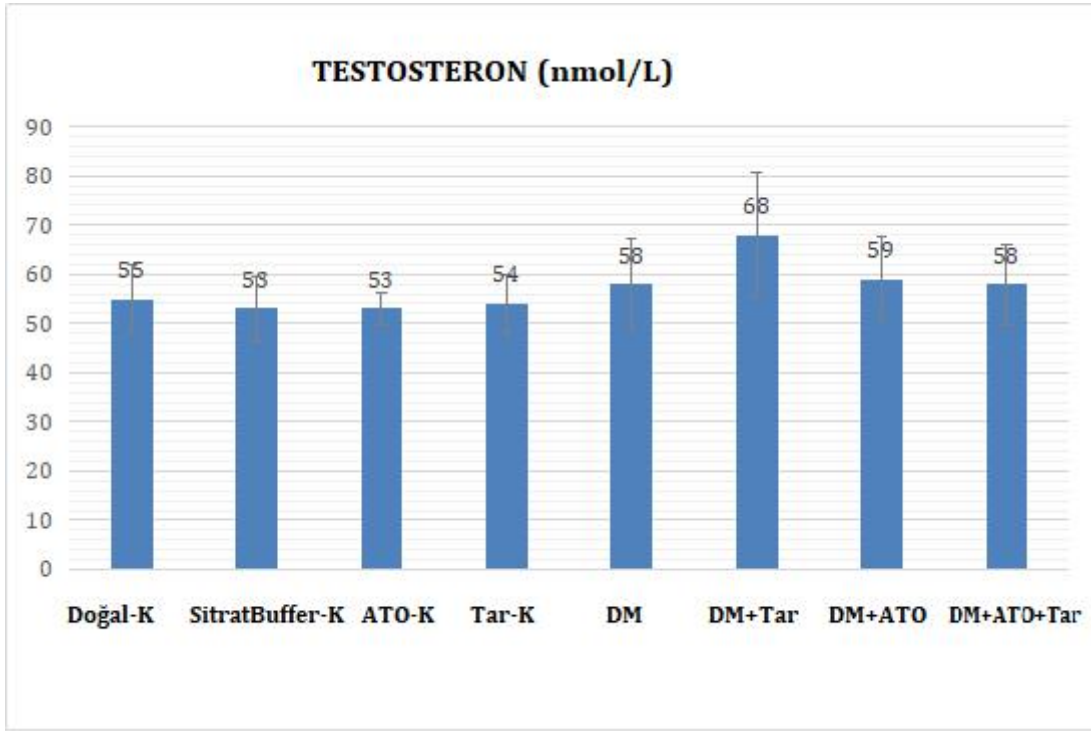


Çizim 4. 3. Deney sonunda sakrifiye edilen hayvanların testis ağırlık ortalamalarının gruplar arası karşılaştırması ($X \pm SS$) (mg). $p < 0.05$; *DM ve Tar-K grubu arasında fark var.

4.3. Biyokimyasal parametreler

Hayvanlardan alınan kalp kanları, biyokimyasal parametreler bakılmak üzere ilgili laboratuvara gönderildi. Biyokimyasal parametre olarak kan serumlarında testosteron, total kolesterol, total antioksidan kapasite (TAS), total oksidatif stres (TOS) ve oksidatif stres indeksi (OSI), serum MDA düzeylerine bakıldı ayrıca testis dokusunda MDA ve GSH düzeyleri çalışıldı. Elde edilen sonuçlar çizelge ve çizim şeklinde düzenlendi.

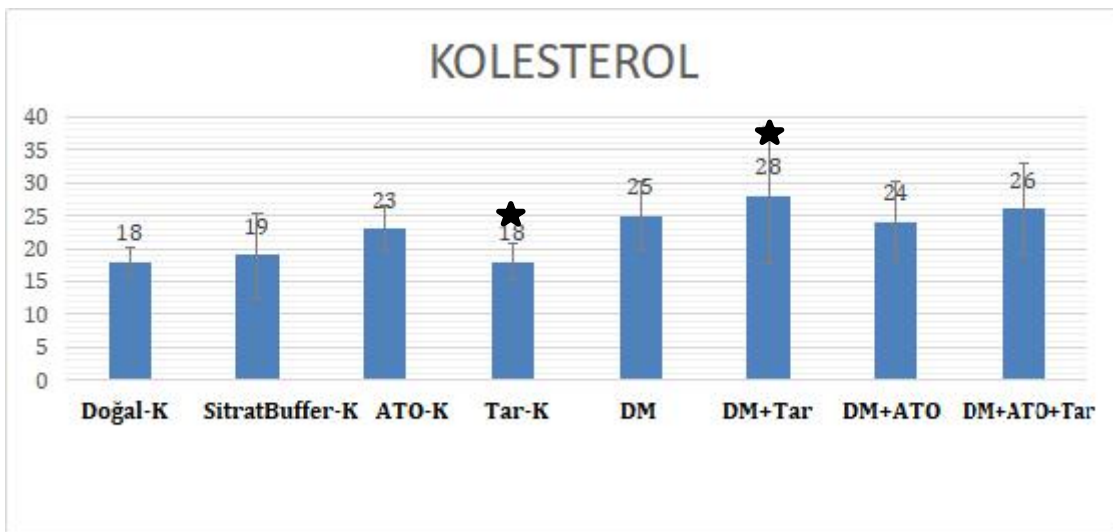
Kontrol ve deney grubu sıçanları, gruplar arası testosteron düzeylerine bakıldığında en düşükten yükseğe doğru sıralayacak olursak: ATO-K, Sitrata Tamponu-K, Tar-K, Doğal-K, DM, DM+ATO+Tar, DM+ATO, DM+Tar şeklindeydi. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı (Çizim 4.4).



Çizim 4. 4. Kontrol ve deney grubu sıçanlarının gruplar arası testosteron düzeylerinin karşılaştırılması (nmol/L).

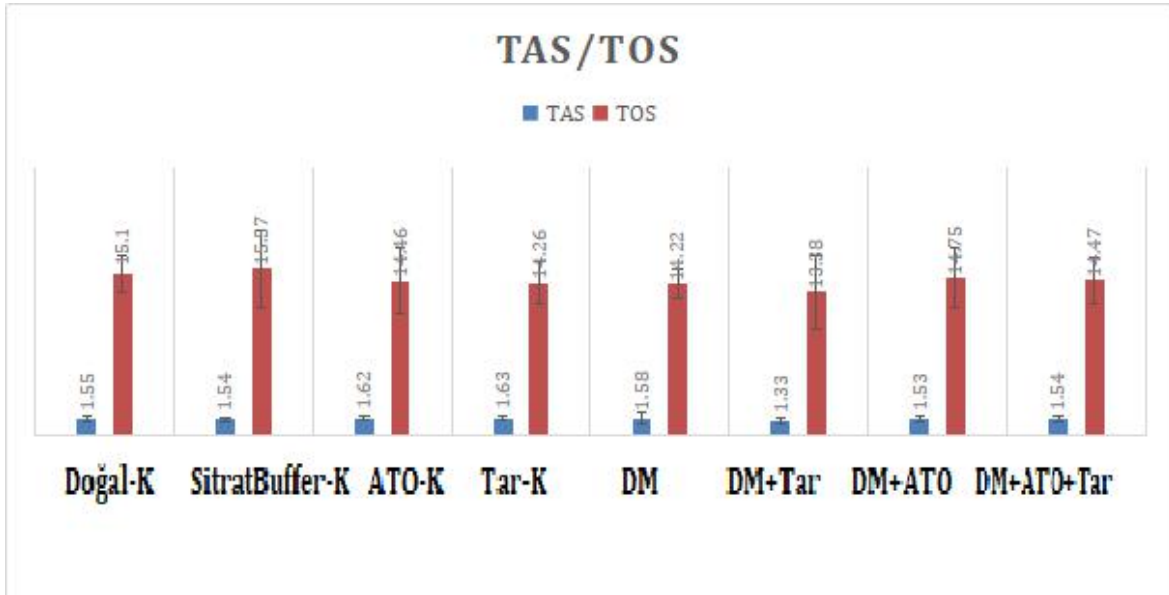
Kontrol ve deney grubu sıçanların gruplar arası total kolesterol düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık ($p < 0.05$) bulundu (Çizim 4.5).

En düşük kolesterol seviyesi Tar-K grubunda gözlemlendi. Bunu Doğal-K, Sitrat Tamponu-K, ATO-K, DM+ATO, DM, DM+ATO+Tar ve DM+Tar grupları takip ediyordu.

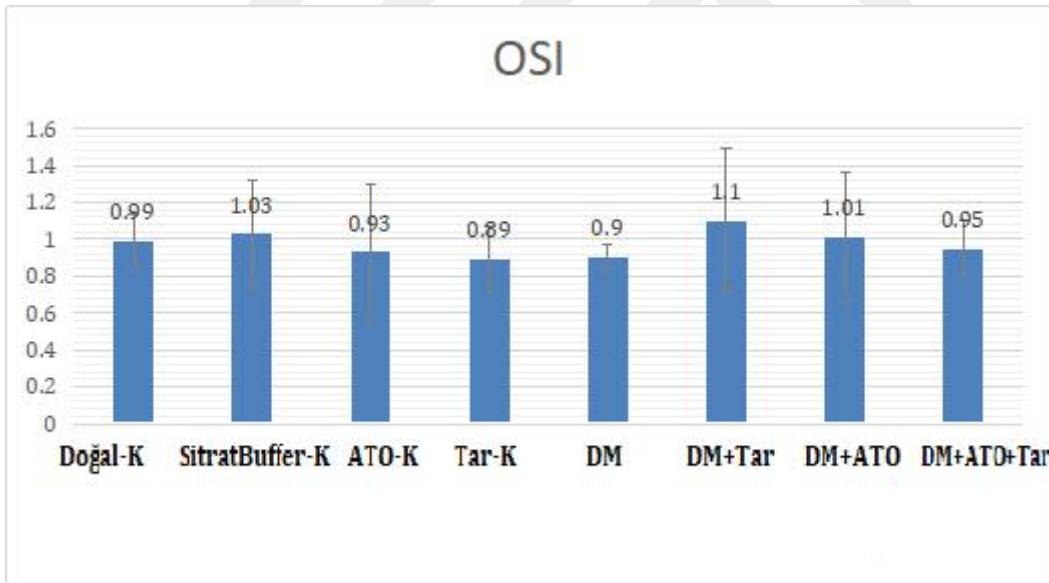


Çizim 4. 5. Kontrol ve deney grubu sıçanların gruplar arası total kolesterol düzeyleri karşılaştırılması (nmol/L). $p < 0.05$; *Tar-K ile DM-Tar grupları arasında fark var.

Kontrol ve deney grubu sıçanların gruplar arası TAS-TOS-OSI düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık ($p>0.05$) bulunmadı (Çizim 4.6, Çizim 4.7).

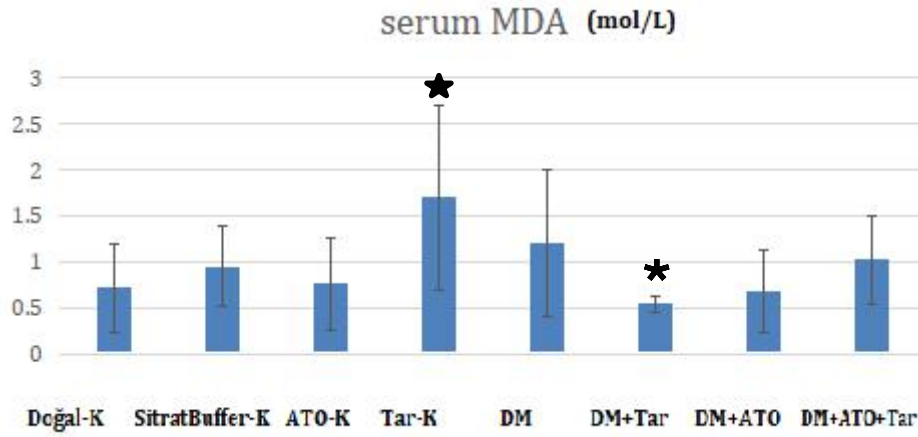


Çizim 4. 6. Kontrol ve deney grubu sıçanların gruplar arası TAS, TOS düzeylerinin karşılaştırması (TAS mmol/L, TOS μ mol/L).



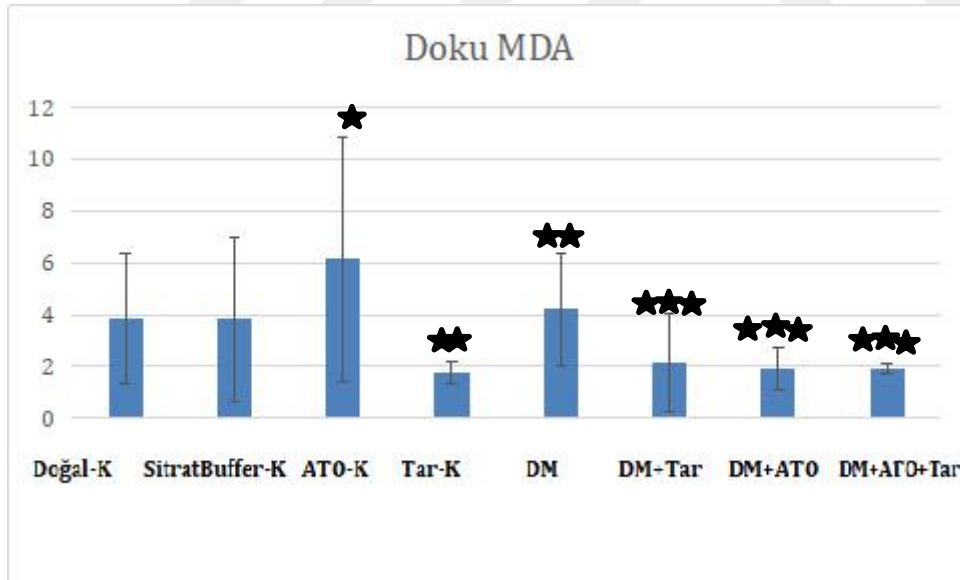
Çizim 4. 7. Kontrol ve deney grubu sıçanların gruplar arası OSI düzeylerinin karşılaştırılması.

Kontrol ve deney grubu sıçanları, gruplar arası serum MDA düzeylerine bakıldığında Tar-K grubu ile DM-Tar grubu arasında anlamlı bir farklılık bulundu ($p<0.05$). En düşükten yükseğe doğru DM+Tar, DM+ATO, Doğal-K, ATO-K, Sitrat Tamponu-K, DM+Tar+ATO gruplarıydı. En yüksek serum MDA düzeyi Tar-K grubundaydı. Bunu DM grubu izliyordu (Çizim 4.8).



Çizim 4. 8. Kontrol ve deney grubu sıçanların gruplar arası serum MDA düzeyleri karşılaştırılması (mol/L). $p < 0.05$; * DM-Tar ile Tar-K grupları arasında fark var.

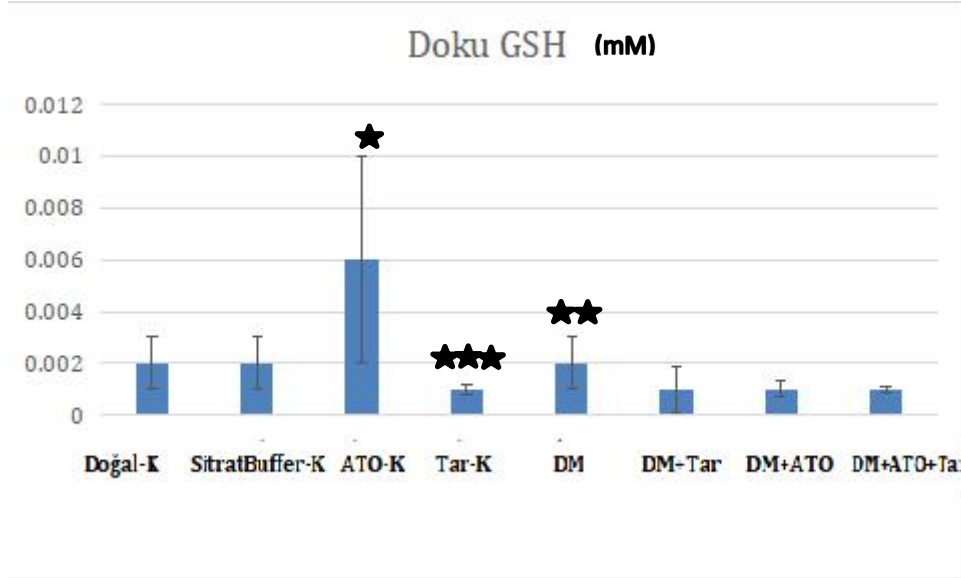
Kontrol ve deney grubu sıçanların gruplar arası doku MDA düzeylerine bakıldığında ATO-K ile diğer gruplar arasında, DM ile Tar-K arasında ve Tar-K ile diğer kontrol grupları arasında anlamlı bir farklılık bulundu ($p < 0.05$). Düşükten yükseğe doğru sırası ile Tar-K, DM+ATO, DM+Tar+ATO, Sitrata Tamponu-K, Doğal-K, DM ve ATO-K grupları olarak gözlemlendi (Çizim 4.9).



Çizim 4. 9. Kontrol ve deney grubu sıçanların testis dokusu MDA düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması (mol/g). $p < 0.05$; *ATO-K ile diğer gruplar arasında, **DM ile Tar-K arasında, ***DM ile diğer deney grupları arasında, Tar-K ile diğer kontrol grupları arasında fark var.

Kontrol ve deney grubu sıçanları, gruplar arası doku GSH düzeylerine bakıldığında ATO-K grubu ile diğer gruplar arasında, Tar-K ile DM arasında, Tar-K ile diğer kontrol grupları arasında anlamlı bir farklılık bulundu ($p < 0.05$). Düşükten yükseğe doğru Tar-K,

DM+Tar+ATO, DM+ATO, DM+Tar, DM, Doğal-K ve Sitrat Tamponu-K grupları tespit edildi. Doku GSH düzeyi en yüksek olan grup ise ATO-K grubu olarak saptandı (Çizim 4.10).

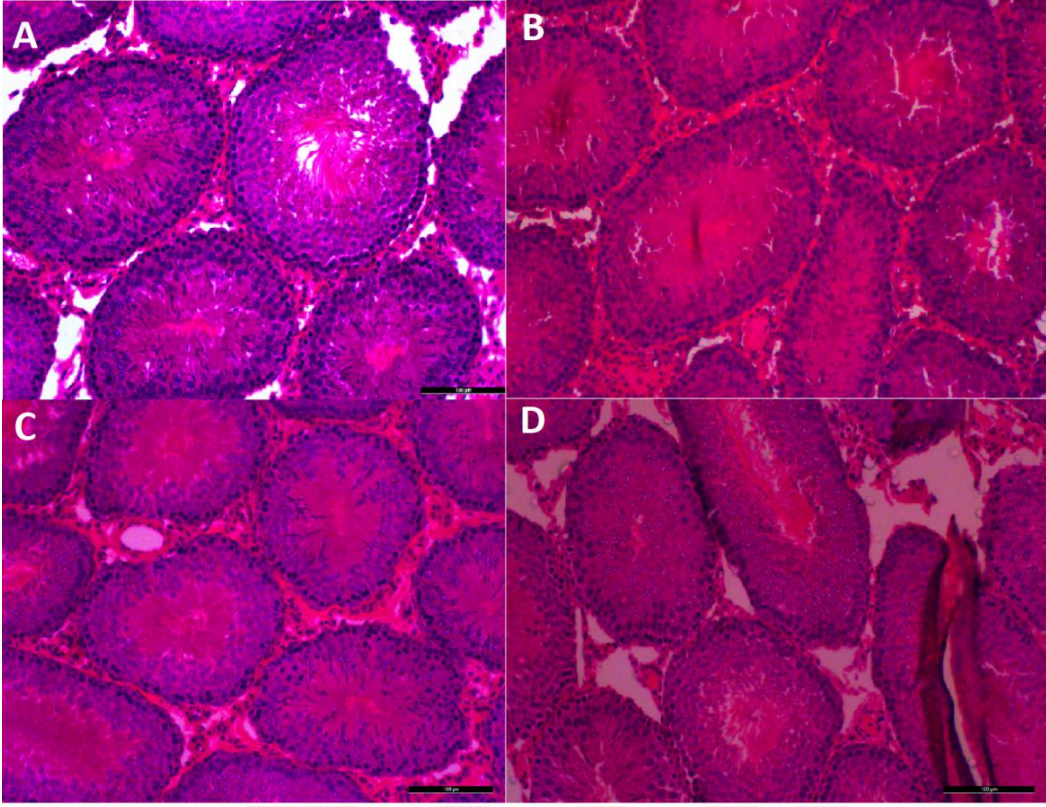


Çizim 4. 10. Kontrol ve deney grubu sıçanların druplararası testis dokusu GSH düzeyleri karşılaştırılması (mM). $p < 0.05$; * ATO-K ile diğer gruplar arasında, **Tar-K ile DM arasında, ***Tar-K ile diğer kontrol grupları arasında fark var.

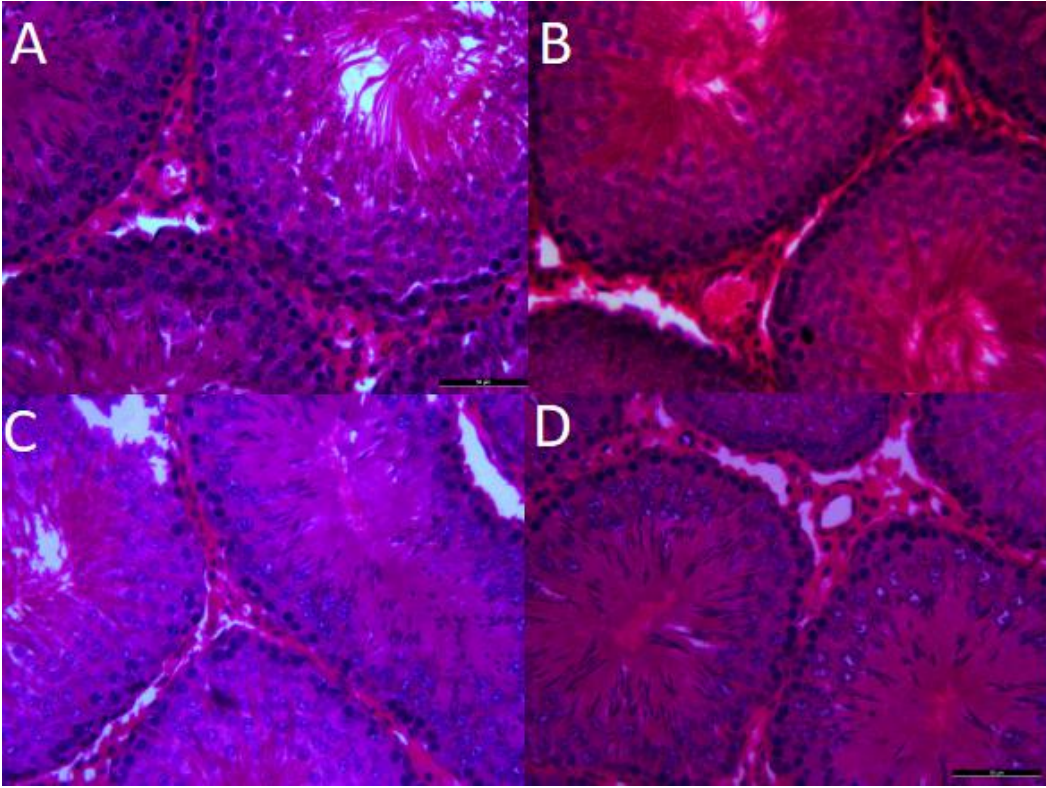
4.4. Işık Mikroskopik Bulgular:

4.4.1. Hematoksilen-Eosin (H&E) Boyaması Bulguları

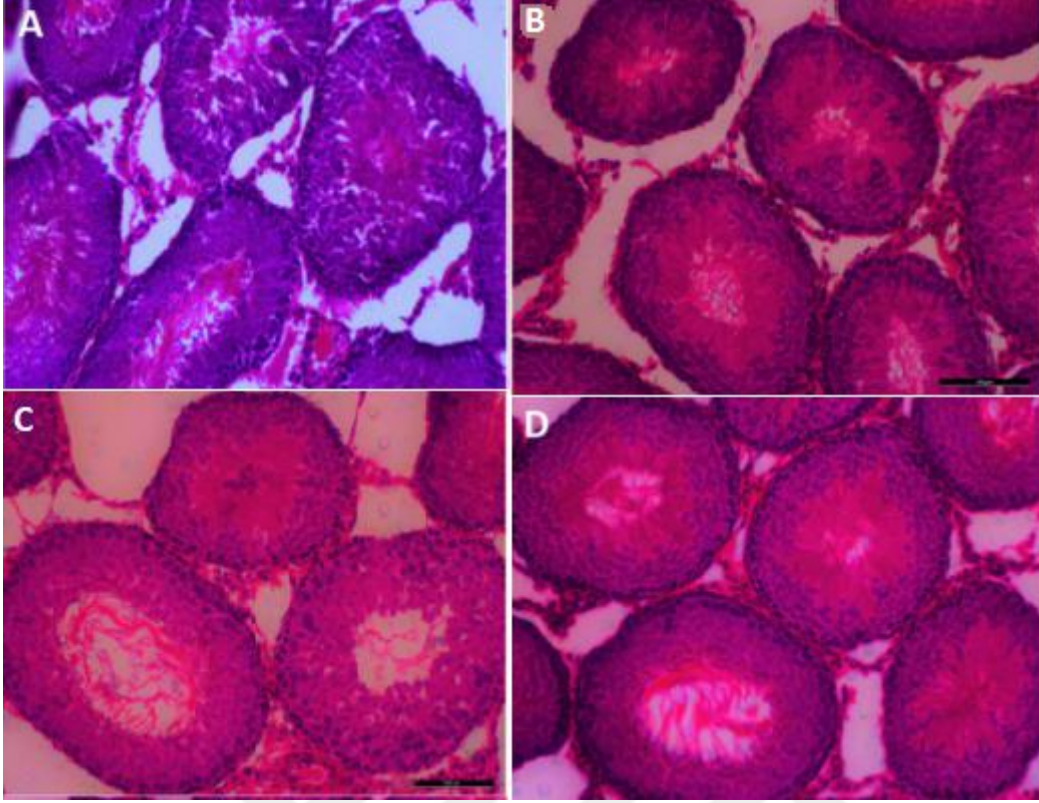
Kontrol ve deney gruplarına ait sıçanların testislerinde seminifer tübüller ve interstisyel doku morfolojik açıdan değerlendirildi. Kontrol gruplarında seminifer tübüllerde spermatogenezisin çeşitli evreleri gözlemlendi. Bu gruba ait testis kesitlerinde normal seminifer epitel, tübül lümenlerinde sperm ve interstisyel alan gözlemlendi. Seminifer tübül duvarı kalın ve hücreler düzgün bir dizilimde görüldü. Kontrol grubunun seminifer tübüllerinde farklı jenerasyondaki hücrelerin normal düzenlenmesi gözlemlendi. (Çizim 4.11, Çizim 4.12). DM grubuna ait testis kesitlerinde seminifer tübül duvarında incelme ve atrofik tübüller dikkati çekiyordu (Çizim 4.13.A, Çizim 4.14.A).



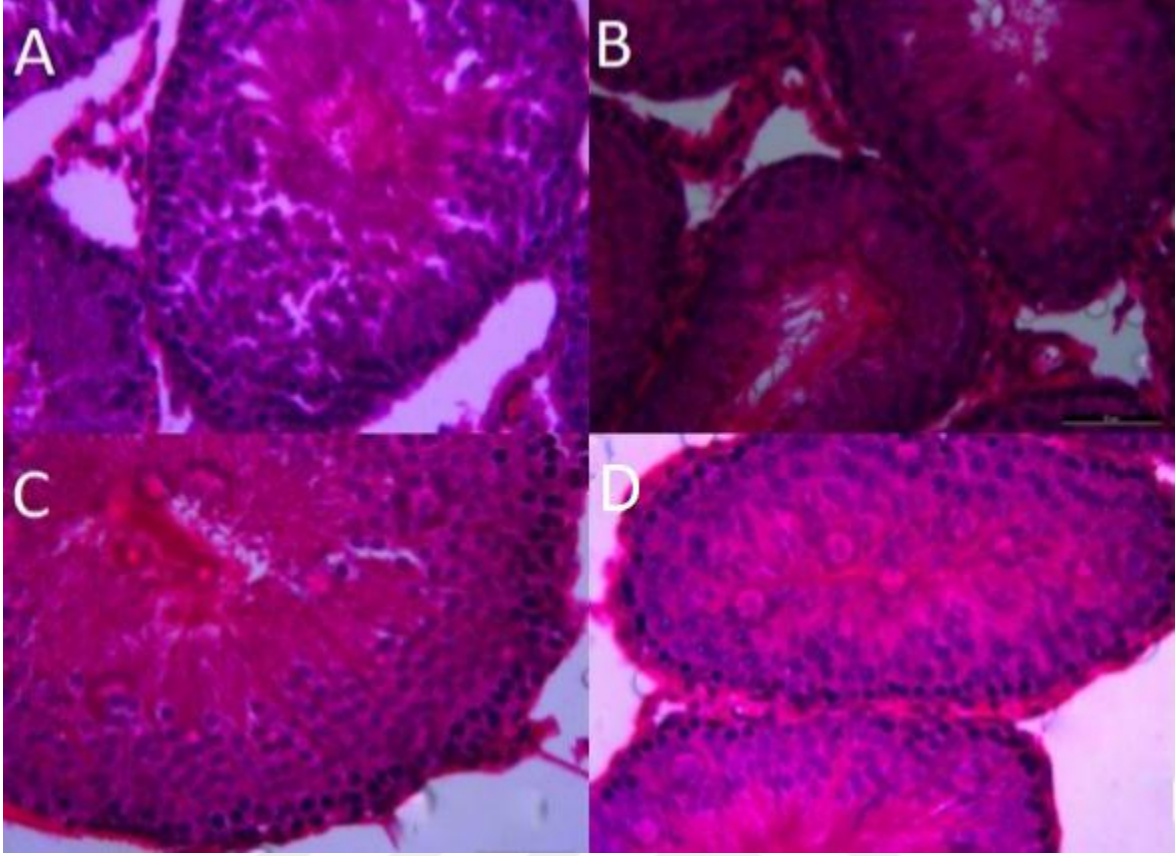
Çizim 4. 11. Kontrol grupları(A: Doğal-K, B: Sitrat Tamponu-K, C: Tar-K, D: ATO-K)' na ait testis kesitlerinin ışık fotomikrografları. H&E, 200X



Çizim 4. 12. Kontrol grupları (A: Doğal-k, B: Sitrat Tamponu-K, C: Tar-K, D: ATO-K)' na ait testis kesitlerinin ışık fotomikrografları.H&E, 400X.



Çizim 4. 13. Deney grupları(A: DM, B: DM+Tar, C: DM+ATO, D: DM+ATO+Tar)' na ait testis kesitlerinin ışık fotomikrografları. DM grubunda germ hücre tabakasında incelme, germ hücre düzeninde bozulma ve atrofik tübüller dikkati çekiyor.DM+Tar, DM+ATO ve DM+ATO+Tar gruplarında germ hücre düzeninin DM'ye göre daha iyi olduğu görülüyor. H&E, 200X.

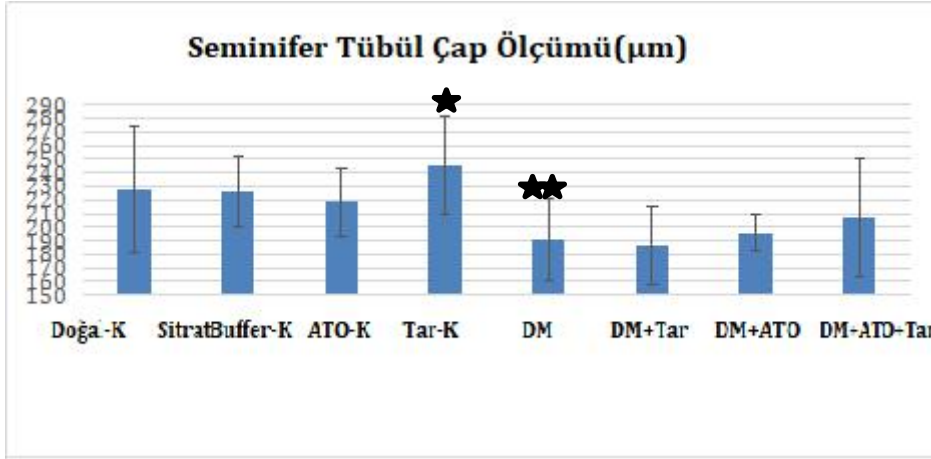


Çizim 4. 14. Deney grupları(A: DM, B: DM+Tar, C: DM+ATO, D: DM+ATO+Tar)' na ait testis kesitlerinin ışık fotomikrografları. DM grubunda germ hücre tabakasında incelme, germ hücre düzeninde bozulma ve atrofik tübüller dikkati çekiyor.DM+Tar, DM+ATO ve DM+ATO+Tar gruplarında germ hücre düzeninin DM' ye göre daha iyi olduğu görülüyor. H&E, 400X.

Nistal ve Paniagua (1999)' un yapmış olduğu skorlamaya göre kontrol grubu kesitleri incelendiğinde histopatolojik olarak normal spermatogenezler gözlenirken deney gruplarında normal spermatogenez ve hipospermatogenez durumları gözlemlendi. Full-spermatogenez sırasıyla Doğal-K, Tar-K, ATO-K ve Sitrat Tamponu-K gruplarında gözlemlendi. Hipospermatogenez ise en fazla DM grubunda olmak üzere sırasıyla DM+ATO+Tar, DM+ATO ve DM+Tar gruplarından daha yoğun miktarda gözlemlendi (Çizelge 4.3).

Tedavi grubuna ait kesitlerin değerlendirilmesinde daha somut veriler oluşturmak üzere seminifer tübüllerin çap ölçümü ve Johsen skorlaması dikkate alındı.Tüm gruplara ait kesitlerde seminifer tübüllerin ortalama çapları istatistiksel olarak değerlendirildi. DM grubu seminifer tübül çapları ile tüm kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı

bir farklılık bulundu (Çizim 4.15). Kontrol ve deney grubu sıçanlarda seminifer tübül çap ölçümlerine bakıldığında Tar+K grubu ile DM grubu arasında anlamlı bir farklılık ($P < 0.05$) belirlendi. En büyükten küçüğe doğru Tar+K, Doğal-K, Sitrat Tamponu-K, Ato+K, DM+Tar+ATO, DM+ATO, DM+Tar şeklindeydi. Özetle seminifer tübül çapları kontrol gruplarında daha büyüktü, DM ve tedavi gruplarında daha küçük çapta olmakla beraber kombine tedavi grubunda hafifçe yükselme vardı (Çizim 4.15).



Çizim 4. 15 . Kontrol ve deney grubu sıçanların seminifer tübül çaplarının gruplar arası ölçümlerinin karşılaştırması (µm). $p < 0.05$; * Tar-K ile diğer gruplar arasında, **DM ile diğer gruplar arasında fark var.

Histopatolojik paternlere göre tüm kontrol gruplarında normal spermatogenezis gözlenirken, DM grubunda ve diyabetik tedavi gruplarında bazı kesitlerde hipospermatogenezis yani germ hücrelerinin bütün evreleri azalmış olarak gözlendi (Çizim 4.13, 4.14, Çizelge 4.3).

Çizelge 4. 3 . Kontrol ve deney gruplarına ait seminifer tübüllerin Johnsen skorlaması.

Johnsen skorlama	Doğal-K	Sitrat Tamponu K	ATO-K	Tar-K	DM	DM+Tar	DM+ATO	DM+ATO+Tar
10	10	9	10	10	6	8	7	7
9	0	1	0	0	3	2	3	3
8	0	0	0	0	1	0	0	0
7	0	0	0	0	0	0	0	0
6	0	0	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0	0	0
1	0	0	0	0	0	0	0	0

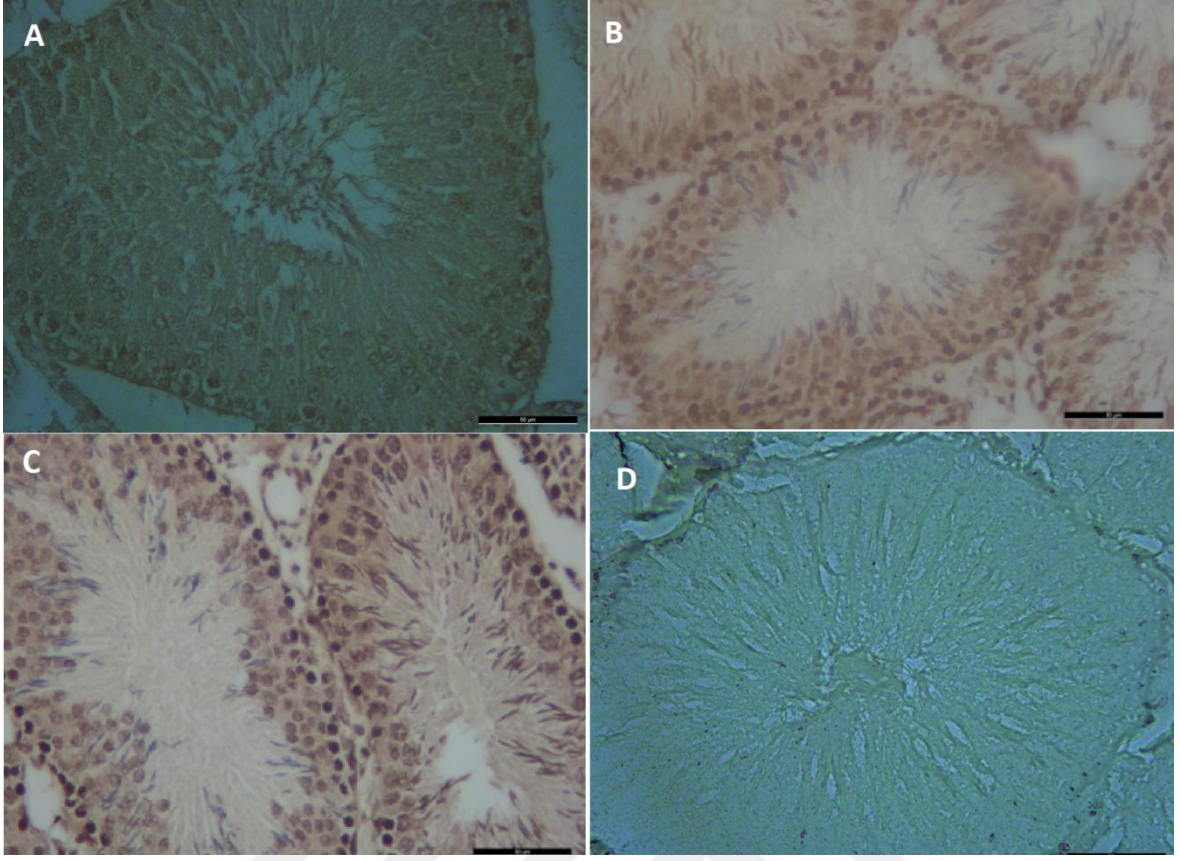
Kontrol gruplarında skor 10, yani full-spermatogenezisin baskınlığı dikkat çekerken, deney gruplarında bu oranın düşmüş olduğu kaydedildi. DM gruplarında tamamlanamamış spermatogenezler daha yoğun olarak gözlemlendi.

4.4.2. TUNEL Tekniği ile Apoptotik Hücrelerin İncelenmesi:

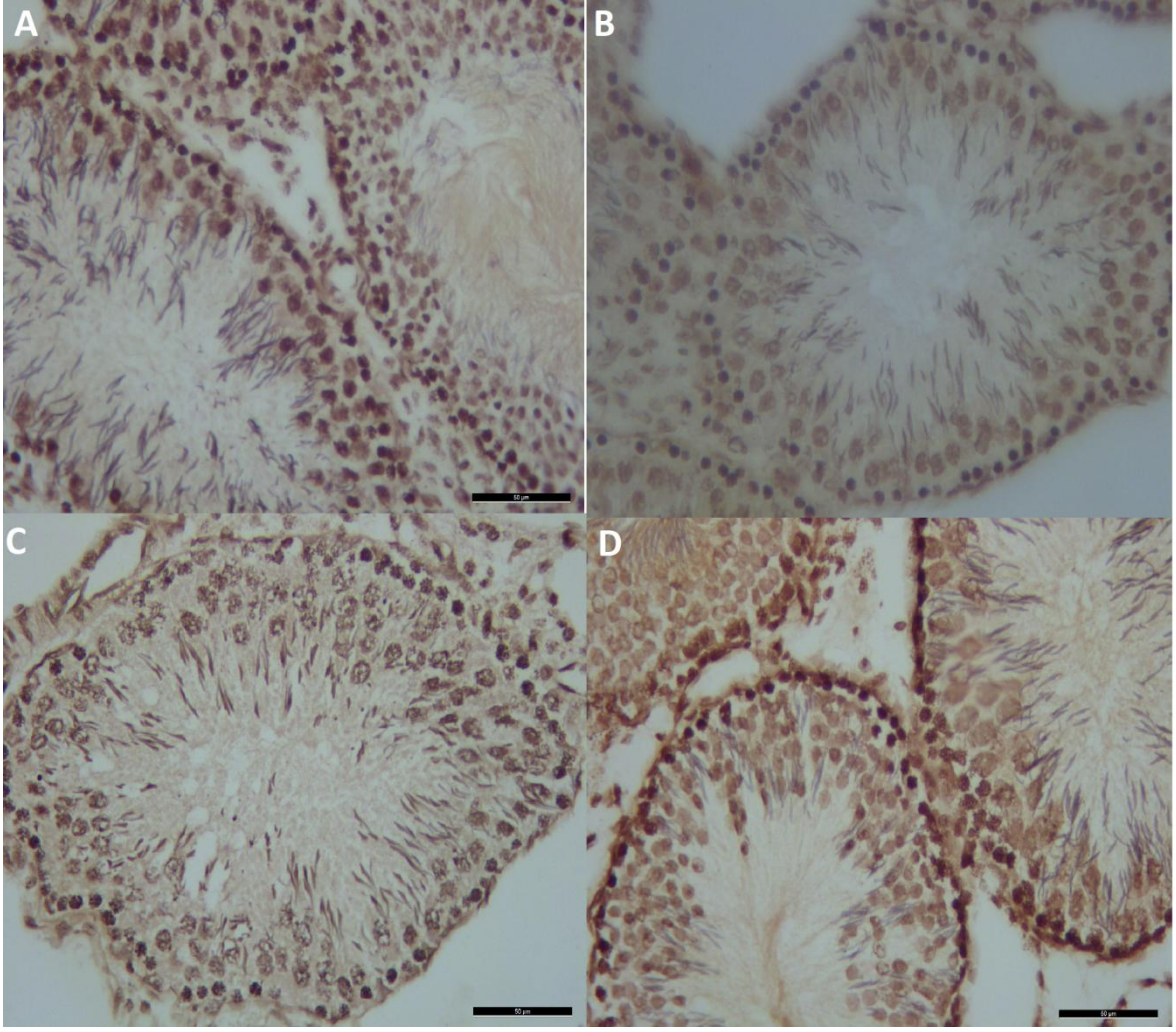
Işık mikroskopik olarak incelendiğinde bir kesitin üzerindeki bütün TUNEL (+) boyanmış kahverengi apoptotik hücreler sayıldı ve gruplara göre değerlendirildi (Çizelge 4.4). Kontrol gruplarında TUNEL (+) hücelere nadiren rastlandı (Çizim 4.16 A). En fazla apoptotik hücreye DM grubunda rastlandı (Çizim 4.17 A, B). DM grubunda Aİ, %38.5 olarak hesaplandı, tüm kontrol gruplarıyla arasında anlamlı farklılık bulundu (Çizelge 4.4). Tedavi gruplarında en azdan en yükseğe doğru Aİ yüzdelerini sıralayacak olursak DM+Tar+ATO, DM+ATO, DM+Tar şeklindeydi.

Çizelge 4. 4. Kontrol ve deney gruplarına ait kesitlerde normal ve apoptotik hücre sayıları ile Apoptotik İndeks(Aİ)'leri görülmektedir.

	Normal Hücreler	Apoptotik Hücreler	Apoptotik İndeks
Doğal	189	11	5,5%
Sitrat Tamponu-K	192	8	4,0%
Tar-K	187	13	6,5%
ATO-K	195	5	2,5%
DM	123	77	38,5%
DM+Tar	138	62	31,0%
DM+ATO	148	52	26,0%
DM+Tar+ATO	157	43	21,5%



Çizim 4. 16. Kontrol grupları(A: Doğal-k, B:Sitrata Tamponu k, C:Tar-K, D:ATO-K)' na ait testis kesitlerinin ışık fotomikrografları.TUNEL, 400X.



Çizim 4. 17. Deney grupları(A: DM; B:DM-Tar; C:DM-ATO; D: DM-ATO-TAR)' na ait testis kesitlerinin ışık fotomikrografları. DM grubunda daha yoğun olarak bulunan apoptotik hücreler dikkati çekiyor. TUNEL, 400X.

5. TARTIŞMA

Diyabetin dünya çapında ve ülkemizde insan sağlığı üzerinde gittikçe artan bir tehdit oluşturması nedeniyle deneysel çalışmalarda diyabet modelleri üzerinde çeşitli araştırmalar yapılmaktadır. Diyabetik sıçan modellerinde genellikle Streptozotosin (STZ) kullanılmaktadır ve STZ enjeksiyonuyla diyabetik hayvan deneylerinde farklı dozların kullanıldığı yayınlara rastlanmıştır. Rodrigues ve diğ. (1999) STZ ile diyabetik hayvan modeli elde edilmesiyle ilgili sıçanların farklı soylarında yapılan çalışmaları “Diyabetin Deneysel Modelleri” adlı kitabın ilk bölümünde vermişlerdir. Srinivasan ve diğ. (2005) normal pelet diyeti (NPD) ile beslenen (yağ olarak% 12 kalori) Sprague-Dawley sıçanlara intra-peritoneal olarak düşük dozda STZ (35 mg/kg) enjekte etmişlerdir. Araştırmacılar yüksek yağlı diyetle beslenen ve düşük dozlu STZ ile tedavi edilen sıçan kombinasyonunun, tip 2 diyabet tedavisi ve anti-diyabetik ajanların test edilmesi için de uygun olan insan sendromunu taklit eden tip 2 diyabete alternatif bir hayvan modeli olarak hizmet ettiğini bildirmişlerdir. Yüksek dozda STZ'nin hayvan kayıplarına yol açması nedeniyle biz de bu çalışmamızda 35 mg/kg STZ dozunu kullandık. STZ'nin birçok kemirgen suşunda kullanılabilecek çok uygun maliyetli ve hızlı bir teknik sunduğunu, bununla beraber küçük hayvan modellerinde doz uygulaması, DM'nin başlaması ve ciddiyeti ile bunun sonucunda ortaya çıkan herhangi bir hastalık ve ölüm ile ilgili verilerin genellikle sınırlı ve tutarsız olduğunu bildirmişlerdir. Bu nedenle, deneyimsiz araştırmacıların STZ'nin toksik bir kimyasal olması nedeniyle yeni çalışmalar tasarlamasının zorluğu ifade edilmiştir. Daha iyi bir seçenek bulunana kadar, mevcut STZ kaynaklı DM modellerinde eksiklikleri gidermek için girişimlerde bulunulmasına ihtiyaç olduğu yayımlanmıştır (Deeds ve diğ. 2011).

Öte yandan yine beslenme ve yaşam tarzıyla ilgili olarak hiperlipidemi de dolaşım sistemi ve organlar üzerinde hasarlanmaya neden olmaktadır. Dislipideminin DM ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (Wu 2014). Statinler dislipidemiye tedavi etmek için en yaygın kullanılan ilaçlardır. Atorvastatin kardiyovasküler komplikasyon riskini azaltan, lipit düşürücü ilaçlardandır (Chehade ve diğ. 2013). Ayrıca, statinler, NAD (P) H oksidazın inhibisyonu ve serbest radikal temizleme aktivitesinin inhibisyonu dahil olmak üzere antioksidan aktivite (Chru'sciel ve diğ. 2016, Sahebkar ve diğ. 2015, Sahebkar ve diğ.

2015, Sahebkar ve diğ. 2016, Serban ve diğ. 2015) ile birçok pleiotropik etkiye (Inoguchi ve diğ. 2003, Wassmann ve diğ.2001, Parizadeh ve diğ. 2011) sahiptir.

Paseban ve diğ. (2019), diyabetik sıçan modeli için 10 haftalık Wistar albino sıçanlara tek doz STZ(60 mg / kg)'yi damıtık su içinde eriterek intraperitoneal (ip) enjeksiyon ile vermişlerdir. STZ enjeksiyonundan üç gün sonra, diyabetin oluşup oluşmadığını anlamak için bir glukometre kullanarak kuyruk damarından alınan kan örneklerinde açlık glikoz seviyelerini değerlendirmişlerdir. Araştırmacılar kan glukoz düzeyi ≥ 250 mg / dL olan sıçanları diyabetik olarak sınıflandırmışlardır (Abbasnezhad ve diğ. 2016).

Park ve diğ. (2017), 8 haftalık erkek Sprague-Dawley cinsi sıçanlar üzerinde çalışmışlardır. Sitrata fosfat tamponu (50 mM sodyum sitrat, pH 4.5) içinde 60 mg / kg tek doz STZ intraperitoneal (i.p.) enjeksiyon ile diyabetik hale getirmişlerdir. Kontrol grubuna aynı hacimde sitrat tamponu uygulamışlardır. Biz de Park ve diğ. (2017) gibi STZ'nin sitrat tamponu içinde daha iyi çözüleceğini düşünerek uyguladık ve Sitrat Tamponu-K grubumuza aynı hacimde Sitrat Tamponu enjeksiyonu uyguladık.

Park ve diğ. (2017), diyabetikleşme olayını STZ enjeksiyonundan 48 saat sonra > 300 mg / dL kan glikoz seviyeleri ile doğrulamışlardır. Araştırmacılar beş sıçan hariç diğer sıçanlarda tek bir STZ enjeksiyonundan sonra diyabetikleşme gözlemişlerdir, kalan hiperglisemik olmayan sıçanlar ise ikinci bir 60 mg / kg STZ enjeksiyonu aldıktan sonra üç gün içinde diyabetik hale getirilmiştir. Bizim çalışmamızda kan şekeri düzeyleri 1.haftada 403, 3.haftada 410, ve 10.haftada 420 mg/dl düzeylerine yükseldi (Çizelge 4.2). Park ve diğ. (2017), DM grubunda ilk STZ enjeksiyonuyla hiperglisemik olmayan sıçanları ikinci bir 35 mg/kg STZ enjeksiyonu verdikten sonra bir hafta içinde diyabetik hale getirmişlerdir. Bu araştırmacılar, tedavi grubunda DM oluşturulmasından 10 hafta sonra, dört hafta boyunca oral gavaj yoluyla Atorvastatin (10 mg / kg/gün) uygulamışlardır. Kontrol grubunda hayvan kaybı gözlemlenmiştir, DM grubunda dört sıçan ve Statin grubundaki beş sıçanın öldüğünü, yani toplamda ölüm oranının % 20 olduğunu bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda ise DM grubunda 4 hayvan kaybı gözlemlendi, Atorvastatin grubunda hayvan kaybı gözlemlenmedi. Burada tedavi gruplarımızdaki kan glukoz düzeylerine dikkati çekmek gerekiyor: 1.haftada DM-Tar ve kombine grupta 352, DM-ATO grubunda 372 idi. 3.haftada DM-Tar grubunda 342, kombine grupta 350, DM-ATO grubunda 370 idi.

10.haftada ise DM-Tar grubunda 345, kombine grupta 348, DM-ATO grubunda 365 idi. Yani tedavi gruplarımızda başta DM-Tar olmak üzere kan glukoz düzeylerinde azalma dikkati çekiyordu. Tarçının diyabetik hayvanlarda kan şekerini azaltıcı etkisi istatistiksel olmasa da gözlemlendiğini söyleyebiliriz.

Park ve diğ. (2017) 14 hafta sonra, deney sonuçlarını değerlendirmişlerdir: Kontrol grubu sıçanlarda sabit ağırlık artışı varken, DM ve Statin gruplarında deney süresince kilo kaybı gözlemlenmiştir; yani vücut ağırlıkları gruplar arasında anlamlı derecede farklı bulunmuştur. Bizim çalışmamızda deney sonunda, yani 10 hafta sonra en düşük vücut ağırlığı DM grubunda (310 ± 44.60 g), en yüksek vücut ağırlığı ise Doğal-kontrol (383.80 ± 27.5 g) ve DM+ATO+Tar kombine tedavi grubunda (416 ± 47.36 g) olduğu gözlemlendi. Bu konuda literatür taraması yaptığımızda Pournaghi ve diğ. (2012) tarafından kontrol ve DM grupları arasında belirgin bir ağırlık farklılığı gözlemlendiği bildirilmiştir. Pareek ve diğ. (2009), Atorvastatin tedavisi alan gruplarla, ve Shokri ve diğ. (2015) tarçın tedavisi alan gruplarla tedavi görmeyen diyabetik gruplar arasında belirgin bir ağırlık farkı olduğunu rapor etmişlerdir. Bizim çalışmamızda tedavi sonrasında Doğal-K grubunda 38 g, Sitrat Tamponu-K grubunda 20 g, Tar-K grubunda 36 g, ATO-K grubunda 27 g ve kombine tedavi grubunda 8 g ağırlık artışı vardı. En fazla ağırlık kaybı ise DM grubunda 85 g olup, DM+Tar grubunda 12 g, DM+ATO grubunda 46 g. ağırlık kaybı gözlemlendi. Kombine tedavide ağırlık kaybının önlemlendiği belirlendi.

Park ve diğ. (2017), çalışmalarında DM ve Statin gruplarındaki kan glukoz düzeylerinin ölçülebilir en yüksek seviyeye yakınken, Kontrol grubunda normal sınırlarda olduğunu, ancak DM ve Statin grupları arasında istatistiksel fark olmadığını bildirmişlerdir.

Bizim çalışmamızda tüm gruplarda deney öncesi, STZ enjeksiyonundan 1 hafta sonra, 3 hafta sonra ve 10 hafta sonra kan glukoz değerlerini incelediğimizde DM ve DM+Tedavi grupları ile kontrol grubu karşılaştırıldığında kan glukoz değerlerinde anlamlı bir artış vardı ($p<0.05$). Diyabet oluşturduğumuz gruplarda 35 mg/kg, i.p. STZ tek dozu hayvanların % 91' inde yüksek kan glikoz seviyeleri ($>350\text{mg/dL}$)'ne neden oldu. Kontrol gruplarımız ile diyabetik gruplarımız arasında kan glikoz seviyeleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık vardı. STZ enjeksiyonu sonrası 1., 5., 10. haftalarda özellikle DM grubunda kan glikoz seviyelerinde sürekli yükselme gözlemlendi ve kontrol gruplarına göre anlamlı bir artış saptandı ($p<0.05$). 10. haftanın sonunda en fazla düşüş DM+Tar grubunda gözlenmekle beraber bu düşüş, istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Bu konuda

literatür taradığımızda Pournaghi ve diğ. (2012) diyabetik gruplarla kontrol gruplarını karşılaştırdıklarında; Pareek ve diğ. (2009), Atorvastatin tedavisi gören diyabetik sıçanlarla yaptıkları çalışmalarda; Shokri ve diğ. (2015), tarçın tedavileri uyguladıkları diyabetik sıçanlarla yaptıkları çalışmalarda benzer sonuçlar rapor etmişlerdir.

Tüm gruplara ait testis ağırlıklarını dikkate aldığımızda DM grubunda kontrollere göre düşük olmakla beraber anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p < 0.05$). En yüksek testis ağırlıkları sırasıyla Doğal-kontrol, Tar-kontrol, DM+Tar, DM+ATO+Tar gruplarındaydı. Testis ağırlıkları açısından literatür taradığımızda Long ve diğ. (2018) yaptıkları çalışmada diyabetik sıçan testisleri ile kontrol grupları arasında belirgin ağırlık farkı tespit etmişlerdir.

Bustan ve Jawad (2017), 12-16 haftalık farelere 10.6 mg / kg dozda Atorvastatini 21 gün boyunca günde bir kez uygulamışlardır. Testislerin ağırlığı, serum testosteron düzeyleri ve histopatolojik olarak yapısını incelemişlerdir. Kontrol grubuna kıyasla tedavi grubunda serum testosteron düzeyinde (% 39.6 azalma) ve testis ağırlıklarında (% 13.3 azalma) istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte saptanmıştır. Histopatolojik inceleme sonuçlarına göre Atorvastatin, testis dokusunda hafif ve orta derecede anormal değişikliklere neden olmuştur. Tedavi edilen ve kontrol grupları arasında total kolesterol düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Bizim çalışmamızda en düşük testosteron düzeyleri sırasıyla ATO-K, Sitrat Tamponu-K, Tar-K gruplarında gözlenmekle beraber gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı. Bustan ve Jawad (2017)'in serum testosteron düzeylerindeki azalma, bizim çalışmamızda ATO-kontrol grubunda olması itibarıyla benzerlik gösteriyordu.

Başka bir çalışmada, Grossmann (2011) tarafından diyabet ile düşük testosteron seviyesi arasında ilişki saptanmıştır. Schooling ve diğ. (2013), statinlerin kullanımının testosteron seviyesinde düşüslere neden olduğunu bildirmişlerdir. Fathiazad ve diğ. (2013), 8 haftalık Wistar albino sıçanlara gavage yöntemiyle 4 hafta süreyle günde 75mg / kg Tarçın verilmesinin serum testosteron seviyesinde belirgin bir artışa neden olduğunu rapor etmişlerdir.

Çalışmamızda total kolesterol düzeyleri açısından en düşük kolesterol seviyeleri Tar-K, Doğal-K, Sitrat Tamponu-K, ATO-K, DM+ATO şeklindeydi ve gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık vardı ($p < 0.05$). Schooling ve diğ. (2013) insanlar

üzerinde yaptıkları meta-analiz çalışmalarında statinlerin kısmen testosteronu azalttığını göstermiştir.

Oksidatif stresin diyabetle ilişkili komplikasyonların gelişimine sebep olabilen bir mekanizma olduğuna dair kanıtlar artmaktadır. Diyabetteki aktive olmuş polimorfonükleer hücrelerin yanı sıra glikozun otoksidasyonunun, hidroksil ve süperoksit radikallerinin üretilmesi yoluyla oksidatif strese neden olduğu gösterilmiştir (Lipinski 2001).

Usta ve diğ. (2018) yaptıkları çalışmada diyabetik ratlarda TAS değerinde düşüş ve OSI değerinde artış saptamışlardır. Uzar ve diğ.(2012) ise bunlara ek olarak TOS değerinde de diyabetle beraber artış olduğunu bildirmişlerdir. Fathiazad ve diğ. (2013), Tarçın'ın sıçanlarda ardışık otuz gün boyunca uygulanmasını kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, TAS seviyesini anlamlı şekilde arttırdığını ($P < 0.05$) saptamışlardır. Bizim çalışmamızda gruplar arası TAS-TOS-OSI düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı. OSI düzeyinde Tar-K grubumuzda hafifçe azalma ve DM-Tar grubunda hafifçe artış gözlemlendi, kombine grupta ise Doğal-K grubuna daha yakındı.

Park ve diğ. (2017), çalışmalarında plazma MDA düzeylerinde DM ve Statin grupları arasında anlamlı farklılık olmadığını bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda da DM ve Atorvastatin alan gruplar arasında serum MDA düzeyleri açısından anlamlı bir fark yoktu; Tar-K grubu ile DM-Tar grubu arasında anlamlı bir farklılık bulundu ($p < 0.05$). En düşük serum MDA düzeyleri DM+Tar, DM+ATO, Doğal-K, ATO-K gruplarındaydı ve en yüksek serum MDA düzeyi Tar-K ve DM gruplarındaydı. Testis doku MDA düzeylerini dikkate aldığımızda DM grubu ile diğer deney grupları arasında, ATO-K grubu ile de diğer gruplar, DM ile Tar-K arasında, Tar-K ile diğer kontrol grupları arasında anlamlı bir farklılık bulundu ($p < 0.05$). En düşük doku MDA düzeyleri Tar-K, DM+ATO, DM+Tar+ATO idi ve en yüksek doku MDA düzeyleri DM ve ATO-K gruplarındaydı. MDA verilerimizi karşılaştırma yapabileceğimiz literatür taramasında Halifeoğlu ve diğ. (2005)' te diyabetle beraber MDA değerlerinde artış olduğunu ve bu artışın diyabetin şiddetiyle doğru orantılı olarak arttığını raporlamıştır. Sathyapalan ve diğ. (2012) ve Save ve diğ. (2006)' ve Hadi ve diğ. (2010)' da Atorvastatin kullanımının; Roussel AM ve diğ. (2009)' da tarçın tüketiminin MDA seviyesini düşürdüğünü bildirmişlerdir. Bizim MDA doku parametrelrimiz de deney gruplarında Atorvastatin ve tarçının doku MDA düzeylerini düşürdüğünü gösterdi.

Çalışmamızda GSH düzeylerini dikkate aldığımızda ATO-K grubu ile diğer gruplar arasında, DM ile Tar-K arasında, Tar-K ile diğer kontrol grupları arasında anlamlı bir farklılık vardı ($p<0.05$). En düşük GSH düzeyleri sırasıyla Tar-K, DM+Tar+ATO, DM+ATO gruplarındaydı ve en yüksek GSH düzeyleri Doğal-K ve Sitrat Tamponu-K gruplarındaydı. Doku GSH düzeyi en yüksek olan grup ise ATO-K grubundaydı. GSH verilerimizi karşılaştırma yapabileceğimiz literatür taramasında Lutchmansingh FK ve diğ. (2018) diyabetik bireylerde GSH seviyesinin kontrol gruplarına göre daha düşük olduğunu bildirmişlerdir. Atorvastatin tedavisi uygulanan diyabetik sıçanlarla yaptıkları çalışmalarda Hadi ve diğ.(2010), atorvastatin tedavisinin uygulandığı gruplarda GSH seviyesinin tedavi görmeyen diyabetik gruplara göre daha düşük olduğu raporlanmıştır. Bu sonuçlar bizim sonuçlarımızla uyumludur. Mishra ve diğ. (2010), diyabetik gruplarda düşen GSH seviyesinin tarçın tedavisi ile yükseltildiğini ancak sağlıklı kontrol gruplarına oranla GSH seviyelerinin düşük kaldığını raporlamıştır.

Caldeira ve diğ. (2010), vücut ve testiküler biyometrik parametrelerin üreme modellerinin oluşturulması ve dolayısıyla farklı türlerde yardımcı üreme protokollerinin geliştirilmesi için çok önemli olduğu bildirilmiştir. Testis ağırlığı ve sperm popülasyonu arasında doğrudan bir korelasyon incelenen diğer türlerde gözlenmiştir. Çünkü testis büyüklüğü esas olarak ana bileşeni olan seminifer tübüllerin toplam hacmini yansıtmaktadır. Bu parametrelerin değerleri bir anlamda sperm verimliliğine işaret etmektedir. Bu nedenle biz de çalışmamızda testislerde değerlendirme ölçütlerimize seminifer tübül çaplarını dahil ettik. Çalışmamızda tüm gruplarına ait sıçan testislerinde seminifer tübüller ve interstisyel doku ışık mikroskopik olarak incelendiğimizde DM grubunda seminifer tübül duvarında incelme ve atrofik tübüller dikkati çekiyordu. DM grubunda germ hücre tabakasında incelme, germ hücre düzeninde bozulma ve atrofik tübüller izlenmesine karşın tedavi gruplarımızda germ hücre düzeninin DM grubundakilere göre daha iyi olduğu gözlemlendi. Tedavinin değerlendirilmesinde daha somut veriler oluşturmak için seminifer tübüllerin çap ölçümü ve Johsen skorlaması dikkate alındı.

DM grubu seminifer tübül çapları ile tüm kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir bulundu. Seminifer tübül çap ölçümlerine bakıldığında Tar+K grubu ile DM grubu arasında anlamlı bir farklılık ($P < 0.05$) bulundu. En büyükten küçüğe doğru çap ölçümü Tar+K, Doğal-K, Sitrat Tamponu-K, Ato+K gruplarındaydı ve sırasıyla en küçükten büyüğe doğru çap ölçümü DM+Tar, DM+ATO ve DM+Tar+ATO

gruplarındaydı. Kısaca en yüksek seminifer tübül çap ölçümleri kontrol gruplarındaydı; DM ve tedavi gruplarında daha küçük çapta olmakla beraber kombine tedavi grubunda hafifçe artış dikkatimiz çekti.

Şişman ve diğ. (2014), diyabetik sıçanlarda, seminifer tübül çapının azaldığını ve seminifer tübüllerde dejenere germ hücreleri ile TUNEL pozitif hücrelerin artışının apoptozis ve testis hasarının artması ile ilişkili olduğunu bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda da en küçük çaplı seminifer tübüller, DM grubunda olup en sık TUNEL (+) hücrelere DM grubunda rastlandı.

Çalışmamızda kontrol gruplarında Johnsen skoru 10 olup full-tam spermatogenez varken deney gruplarında bu oranın düşmüş olduğu gözlemlendi. Nistal ve Paniagua (1999)' un yapmış olduğu skorlamaya göre kontrol grubu kesitleri incelendiğinde histopatolojik olarak normal spermatogenez gözlenirken deney gruplarında normal spermatogenez ve hipospermatogenez durumları gözlemlendi. DM grubunda hipospermatogenez gözlemlendi. Johnsen skorlama verilerimizi karşılaştırma yapabileceğimiz literatür taramasında Sisman ve diğ. (2014)' te yaptıkları çalışmalarda deneysel diyabet oluşturulmuş sıçanların testislerinde spermatogenez oranının düştüğünü, ortalama seminifer tübül çaplarının azaldığını ve bazal membran kalınlıklarının arttığını, Johnsen skorunun düştüğünü raporlamışlardır. Naeimi ve diğ. (2017) yaptıkları çalışmalarda atorvastatin kullanımının testiküler hasarları önlemede ve gidermede etkili olduğunu bildirmişlerdir. Heeba GH ve Hamza (2015) diyabetik erkek sıçanlar üzerinde yaptıkları çalışmalar sonucunda statin kullanımının spermatogenezini arttırdığını bildirmişlerdir.

Çalışmamızda kontrol gruplarında TUNEL (+) hücrelere tek tek rastlanırken en fazla apoptotik hücreye DM grubunda gözlemledik (DM grubu Aİ, %38.5) ve tüm kontrol gruplarıyla arasında anlamlı farklılık vardı. Tedavi gruplarında en düşük Aİ; DM+ATO, DM+Tar gruplarındaydı.

Apoptozis olayı birçok dokuda düzenleyici işleve sahip fizyolojik bir olaydır. Normal spermatogenez sürecinde de belli bir oranda gereklidir. Spermatogenez insanda 8 evrede, sıçanlarda 14 evrede gerçekleşmektedir (Aitken ve diğ. 2001). Bu evrelerin bazılarında apoptozis çeşitli oranlarda gerçekleşir, böylece germinal hücrelerinin sayısı ve kalitesi kontrol altında tutulur. Spermatogenez sürecinde germ hücrelerinin çoğu (yaklaşık %75'i) olgunlaşmadan apoptozis ile ortadan kaldırılır (Huckins 1978). Apoptozun kontrol

işleminde Sertoli hücreleri önemli rol oynamaktadır (Schmidt ve diğ. 1995). TUNEL yönteminde preapoptotik hücrelerin bile boyanması bu yöntemin duyarlılığını arttırmaktadır. Bu sebeple TUNEL tekniği apoptozis değerlendirilmesinde en çok tercih edilen standart bir metottur (Kockx ve diğ. 1998). Statinlerin sitokrom P-450 hepatik enzim sistemi ile metabolize edilen diğer bazı ilaçlarla birlikte alınması miyopati riskini arttırdığından, bu enzim sistemi ile statin etkileşiminin miyopati ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir (Heinrich ve diğ.1991).



6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Yaptığımız çalışmada, tarçın ve atorvastatinin diyabetin kronik ve akut komplikasyonlarına karşı koruyucu etkilerine bakıldı. Kontrol ve deney gruplarını karşılaştırdığımızda;

- I. Diyabete bağlı kilo kaybına karşı öncelikle Atorvastatin'den başka tarçının koruyucu etkisi olduğu saptandı.
- II. Diyabete bağlı yaşanan testosteron seviyesindeki düşmeye karşı tarçının etkili olduğu fark edildi. Ancak kontrol gruplarından elde edilen bilgiler ışığında, sağlıklı bireylerde atorvastatin kullanımının testosteron seviyesinde düşüşe neden olabileceği düşünüldü.
- III. Yüksek kolesterole karşı koruyucu etkisi olduğu bilinen atorvastatinin bu etkisiyle paralel sonuçlar elde edildi.
- IV. Tarçın-K grubunda kolesterol seviyesinde azalma, DM-Tar grubunda ise bu etkisinin olmadığı saptandı. DM-Tar grubunda kolesterol ve testosteron seviyeleri birbirine paralel olarak nisbeten yüksek olduğu görüldü.
- V. Antioksidan ve oksidan seviyelerinde yaşanan diyabete bağlı bozulmalar üzerinde tarçın ve atorvastatinin iyileştirici etkileri olduğu gözlemlendi.
- VI. Diyabete bağlı yaşanan semifer tübül çaplarındaki düşüşün şiddetinin başta atorvastatin ardından da tarçın tedavisi ile azaltılabileceği düşünüldü.
- VII. Testis dokusunda diyabete bağlı artış gösteren apoptotik hücre oranının alternatif tedavi yöntemleri ile düşürülebileceği gözlemlendi.
- VIII. Diyabete bağlı olarak azalma gösteren spermatogenezin atorvastatin ve ardından tarçın tedavisi ile artırılabilceği tespit edildi.
- IX. Tarçının antioksidan etkisinin DM etkisi ile azalabileceği düşünüldü.
- X. Doku ve serum MDA değerlerinde görülen farklılık nedeniyle, kullanılan yöntemlerin lokal ve sistemik etkinliklerinde farklılıklar olabileceği görüldü.
- XI. Tarçının, karbonhidrat alın isteğini azaltmak yoluyla sağlıklı bireylerde kilo kaybına yol açabileceği gözlemlendi.

Çalışmamızdan çıkarılan bir önemli sonuç olarak diyabete bağlı olarak gelişen komplikasyonların şiddetinin atorvastatin ve tarçın kullanımı ile yumuşatılabileceği olmuştur.

Diabetes Mellitus tedavisinde kullanılabilecek alternatif tedavi yöntemleri üzerine yapılan çalışmalara ağırlık verilmelidir. Mevcut tedavi yöntemlerinin maliyeti ve uygulamalarındaki zorluk sebebiyle geliştirilebilecek doğal ve alternatif destek tedaviler hastaların yaşamını kolaylaştıracak, hayat kalitelerini arttıracaktır.

Diyabetik hastalar için tedavi geliştirmek kadar sağlıklı bireylerde gelişebilecek diyabet hastalıklarına karşı önlem amaçlı doğal kaynaklı takviyeler araştırılmalı ve bu konudaki çalışmalar arttırılmalıdır.



7. KAYNAKLAR DİZİNİ

Abbasnezhad A, Niazmand S, Mahmoudabady M ve diğ. *Nigella sativa* seed decreases endothelial dysfunction in streptozotocin-induced diabetic rat aorta. *Aricenna J Phytomed.* 2016; 6(1):67-76

Abraham K, Wöhrlin F, Lindtner O ve diğ. Toxicology and risk assessment of coumarin: focus on human data. *Mol Nutr Food Res* 2010; 52(2):228-39

Agardh CD, Stenram U, Tornffvitt O ve diğ. Effects of inhibition of glycation and oxidative stress on the development of diabetic nephropathy in rats. *Journal of Diabetes and Its Complications.* 2002; 16:395-400

Agarwal R. Synthesis & biological screening of some novel coumarin derivatives. *Biochem Pharmacol.* 2000; 6: 1042-1051.

Aitken R J. and Krausz C. Oxidative stress, DNA damage and the Y chromosome. *Reproduction,* 2001;122:497

Aktas C, Kanter M, Erboğa M, Timurkan H. Effects of experimental diabetes on testis proliferations and apoptosis in rats. *J Exp Clin Med.* 2011; 28: 94-8.

Allen RW, Schwartzman E, Baker WL ve diğ. Cinnamon use in type 2 diabetes: an updated systematic review and meta-analysis. *Ann Fam Med.* 2013; 11(5):452-9

Altan N; Sepici-Dincel A, Koca C. Diabetes mellitus ve oksidatif stres. *Turk J Biochem* 2006; 31(2):51-56

Altay B, Cetinkalp S, Doganavsargil B, Hekimgil M, Semerci B. Streptozotocin-induced diabetic effects on spermatogenesis with proliferative cell nuclear antigen immunostaining of adult rat testis. *Fertil Steril* 2003;80(2):828–31.

Alves MG, Martins AD, Rato L ve diğ. Molecular mechanisms beyond glucose transport in diabetes-related male infertility. *Biochimica et Biophysica Acta.* 2013; 1832:626-635

Amaral S, Oliveria PJ, Ramalho-Santos J. Diabetes and the impairment of reproductive function: possible role of mitochondria and reactive oxygen species. *Curr Diabetes Rev.* 2008; 4(1):46-54

American Diabetes Association. Clinical Practice Recommendations. *Diabetes Care* 2001;5-20

Anderson JE, Thliveris JA. Morphometry and cytochemistry of Leydig cells in experimental diabetes. *Am J Anat* 1987; 180(1):41-48

Anderson RA, Broadhurst CL, Polansky MM ve diğ. Oksidatif DNA hasarının göstergesi olan 8-Hidroksi Deoksiguanozinin analiz yöntemi ve STZ diyabetik sıçanlara uygulanması (Tez) *İstanbul Üniversitesi Sağlık Bil Enst İstanbul*: 2000

Armağan A, Uz e, Yılmaz HR ve diğ. Effects of melatonin on lipid peroxidation and antioxidant enzymes in streptozotocin-induced diabetic rat testis. *Asian J Androl.* 2006; 8(5): 595-600

Arulselvan P, Subramanian SP. Beneficial effects of *Murayya koenigii* leaves on antioxidant defense system and ultra structural changes of pancreatic β -cells in experimental diabetes in rats. *Chem Biol Interact* 2007; 165(2): 155-64

Avcı A., Diyabet oluşturulmuş ratlarda böbrek antioksidan savunma sistemi ve E vitamininin etkileri (Tez) Ankara: Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi; 2001

Ayaşoğlu E. Apoptoz. *T Klin Tıp Bilimleri Dergisi* 2001;57-32

Bağrıaçık N. Diyabet ve metabolizma hastalıkları. *Türk Diyabet ve Obezite Vakfı Yayınları* 1999;1:57-73, 120-143

Bağrıaçık N. Tanı, Komplikasyonlara yaklaşım ve Tedavi Konsensus El Kitabı. İstanbul: *Novo Nordisk Diyabet Servisi Yayınları* 1997; 3-24

Bailey CJ. Potential new treatment for type-2 diabetes. *Trends Pharmacol Sc.* 2000; 21(7):259-65

Bakker-Arkema RG, Davidson MH, Goldstein RJ ve diğ. Efficacy and safety of a new HMG-CoA reductase inhibitor, atorvastatin, in patients with hypercholesterolemia. *Jama*. 1996; 275(2):128-133

Barceloux DG. Cinnamon (*Cinnamomum sp*) *Dis Mon* 2009 2015; 55(6):327-35

Baynes JW, Thorpe SR. Role of oxidative stress in diabetic complications: a new perspective on an old paradigm. *Diabetes*. 1999; 48:1-9

Bellester J, Munoz M, Dominguez J ve diğ. Insulin-dependent diabetes affects testicular function by FSH- and LH-linked mechanisms. *J Androl* 2004; 25(5):706-1

Bellosta S, Bernini F, Paoletti R ve diğ. Non-lipid-related effects of statins. *Annals of Medicine*. 2000; 32(3):146-176

Benitez A, Perez D. Effects of Streptozotocin diabetes and insulin treatment on regulation of Leydig cell function in the rat. *Rat Metab Res* 1985; 17(1):5-7

Bertoli S, Bon G, Campbell LM ve diğ. Efficacy and safety of atorvastatin compared to pravastatin in patients with hypercholesterolemia. *Atherosclerosis*. ; 130(1)191-197

Beumer TL, Roepers LH, Gademan SU ve diğ. Apoptosis regulation in the testis: Involvement of Bcl-2 family members. *Mol opReprod Dev* 2000;56:353-59

Beutler E, Duron O, Kelly BM. Improved method for the determination of blood glutathione. *J Lab Clin Med*. 1963 May;61:882-8.

Blanco-Rodriguez J, Garcia Martinez C. Apoptosis pattern elicited by several apoptogenic agents on the seminiferous epithelium of the adult rat testis. *J Androl* 1998;19:487-97

Blasiak J, Arabski M, Krupa R ve diğ. DNA damage and repair in type 2 diabetes mellitus. *Mutat Res* 2004; 554:297-304

Bolzan AD, Bianchi MS. Genotoxicity of streptozotocin. *Mutation Research* 2002; 512(2-3):121-34

Buege JA, Aust SD. Microsomal lipid peroxidation. *Methods in Enzymology*. 1978; 52:302-310

Buston AA, Jawad AM. The Effect of Two Types of Statins (Rosuvastatin and Atorvastatin) on the Fertility of Male and Female Mice. *British Journal of Medicine&Medical Research*. 2017 19(12):1-11

Buyuksulu N, Yiğitbaşı T. Reaktif oksijen türleri ve obezitede oksidatif stres. *MÜSBED*.2015;5(3):197-203

Cabadak H. Hücre Siklusu ve Kanser. *ADÜ Tıp Fakültesi Dergisi* 2008; 9(3):51-61

Cameron DF, Murray FT, Drylie DD. Interstitial compartment pathology and spermatogenic disruption in testes from impotent diabetic men. *Anat Rec* 1985; 213:53–62.

Cameron DF, Murray FT, Drylie DD. Interstitial compartment pathology and spermatogenic disruption in testes from impotent diabetic men. *Anat Rec* 1985; 213: 53-62

Çanaklı G. Tip 1 diyabet *in vivo* modelinde *Cinnamomum cassia* ekstrelerinin etkilerinin araştırılması (tez) *Ege Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü İzmir-2016*

Carlson BM. Human Embryology and Developmental Biology (3rd Ed.) Ch.16: Urogenital System. *Philadelphia: Mosby - Elsevier* 2004;418-25

Cehade JM, Gladysz M, Mooradian AD. Dyslipidemia in type 2 diabetes: prevalence, pathophysiology and management. *Drugs*. 2013;73(4):327-39

Chruściel P, Sahebkar A, Rembek-Wieliczko M. ve diğ. Impact of statin therapy on plasma adiponectin concentrations: A systematic review and meta-analysis of 43 randomized controlled trial arms. *Atherosclerosis* 2016; 253:194–208.

Cohen JJ. Apoptosis. *Immunol Today* 1993;14:126-30

Collins JA, Schandl CA, Young KK, Vesely J, Willingham MC. Major DNA fragmentation is a late event in apoptosis. *J Histochem Cytochem* 1997;45:923-34

Corbett JA. K cells a novel target for insulin gene therapy for the prevention of diabetes. *Trends Endocrinol Metab*. 2001; 12(4):140-142

Cormack DH. Essential Histology. (2nd Ed.) Chapter Ch.18: Male Reproductive System. USA: Lippincott Williams & Wilkins 2001; 412-26

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 pancreas. *Pharmacos Res* 2005; 51(2):117-23

Damcı T. İnsülin tedavisi. *Diyabet, Obezite ve Metabolizma Hastalıkları Sempozyumu*. İstanbul. 2000; 37-46

Dart A, Jerums G, Nicholson G ve diğ. A multicenter, double-blind- one-year study comparing safety and efficacy of atorvastatin versus simvastatin in patients with hypercholesterolemia. *The American Journal of Cardiology*. 1997; 80(1):39-44

Davidson MM, McKenney JM, Stein EA ve diğ. Long-term efficacy and safety of atorvastatin compared to lovastatin in hypercholesterolemic patients. *Am J Cardiol*. 1997; 79:1475-1481.

Davis JR, Firlit CF. The germinal epithelium of cryptorchid testes, experimentally induced prepubertal and adult rats. *Fertil Steril* 1986;17:187-200.

Deeds MC, Anderson JM, Armstrong AS ve diğ. Single Dose Streptozotocin Induced Diabetes: Considerations for Study Design in Islet Transplantation Models. *Lab Anim* 2011; 45(3): 131–140.

Dragland S, Senoo H, Wake K ve diğ. Several culinary and medicinal herbs are important sources of dietary antioxidants. *J Nutr* 2003; 133(5):1286-90.

Drake RL, Vogl AW, Tibbitts R ve diğ., Gray' s Anatomi Atlası, 2014; Ch. Male Reproductive System

EHSL- Spencer S. Eccles Health Sciences Library, University of Utah

Eiserich JP, Patel RP, O'Donnell VB. Pathophysiology of nitric oxide and related species: Free radical reactions and modification of biomolecules. *Molec Aspects Med*. 1998; 19:221-357

- Ellman GL. Tissue sulfhydryl groups. *Arch Biochem Biophys*. 1959; 82(1):70-7
- Eşrefoğlu M. Özel Histoloji *Malatya: Pelikan Yayıncılık* 2009; 253-69
- European Food Safety Association. Coumarin in flavourings and other food ingredients with flavouring properties. *Efsa J* 2008; 793:1-15
- European Medicines Agency. Assessment report on *Cinnomomum verum*. J. S. Presl (*C. zeylanicum* Nees), cortex and corticis aetheroleum. UK:London 2010
- Fathiazad F, Khaki A, Nouri M, Khaki AA: Effect of Cinnamon Zeylanicum on Serum Testosterone and Anti-oxidants levels in Rats. *International Journal of Women's Health and Reproduction Sciences*. 2013;1(1):29-35
- Firozinia M, Moghadamtous SZ, Sadeghillar A, Karimian H, Bin Noordin MI. Golden natural plant compounds activate apoptosis via both mitochondrial and death receptor pathways: a review. *Electronic Journal of Biology* 2015
- Friedman M, Henika PR, Mandrell RE. Bactericidal activities of plant essential oils and some of their isolated constituents against *Campylobacter jejun*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytigenes* and *Salmonella enterica*. *J Food Prot* 2002; 65(10): 1545-60
- Gartner LP, Hiatt JL. Renkli Histoloji Atlası (4th Ed.) Ch.21: Erkek Üreme Sistemi. (Çev. A. Dağdeviren) *Ankara: Güneş Tıp Kitapevleri* 2009; 369-82
- Gavrieli Y, Sherman Y, Ben-Sasson SA. Identification of programmed cell death in situ via specific labeling of nuclear DNA fragmentation. *J Cell Biol*. 1992;119:493-501
- Grossmann M. Low testosterone in men with type 2 diabetes: significance and treatment. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2011; 98: 8(1): 2341-53
- Gruenwald J, Brendlar T, Jaenicke C. PDR for Herbal Medicines (1st ed.) *Medical Economics Company* 2000; 182-183
- Gruenwald J, Freder J, Armbuerster N. Cinnamon and Health. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2010; 50(9):822-34

Hadi NR, Abdelhussein MA, Alhamami OMO ve diğ. Antioxidant Effect of Atorvastatin in Type 2 Diabetic Rats. *Pharmacology&Pharmacy*. 2010;2:53-9

Halifeoğlu İ, Karataş F, Çolak R ve diğ. Tip 2 Diyabetik Hastalarda Tedavi Öncesi ve Tedavi Sonrası Oksidan ve Antioksidan Durumu. *Fırat Med J*. 2005;10(3):117-22

Hatree EF. Determination of protein: A modification of the lowry method that gives a lineat photometric response. *Analytical Biochem*. 1972; 48(2):422-427

Hazar A. AKciğer kanserli hastalarda MDA ve total antioksidan kapasite (TAOK) düzeyi ölçümü ile oksidan-antioksidan dengemim araştırılması. *TC Sağlık Bakanlığı Süreyyapaşa Göğüs ve Kalp-Damar Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi*. Uzmanlık Tezi. İstanbul. 2006.

Heinrich J, Sandkamp M, Kokot R ve d.ğ. Relationship of lipoprotein (a) to variables of coagulation and fibrinolysis in a healthy population. *Clin Chem* 1991; 37:1950-54

Heeba GH, Hamza AH. Rosuvastatin Ameliorates Diabetes-Induced Reproductive Damage via Suppression of Oxidative Stress, Inflammatory and Apoptotic Pathways in Male Rats. *Life Sciences*. 2015;141:13-9

Hikim AP, Wang C, Leug A, Swerdloff RS. Involvement of apoptosis in the induced of germ cell degeneration in adult rats after gonadotropin releasing hormone antagonist treatment. *Endocrinology* 1995;136(6):2770-5

Holstein A, Schulze W and Davidoff M. Understanding spermatogenesis is a prerequisite for treatment. *Reproductive Biology and Endocrinology* 2003,1:107

Hong CH, Hur SK, Oh O-J ve diğ. Evaluation of natural products on inhibition of COX-2 and NOs in cultured mouse macrophage cells. *J Ethnopharmacol*. 2002; 83(1-2):153-9

Hong J-W, Yang G-E, Kim YB ve diğ. Anti-inflammatory activity of cinnamon water extract *in vivo* and *in vitro* LPS- induced models. *BMC- Complement Alterns Med* 2012; 12:237

HSDB (Hazardus Substances Data Bank) Online database produced by the National Library of Medicine, STREPTOZOTOCIN, 2001; August, 9

Hsueh AJ, Eisenhauser K, Chun S, Hsu S, Billig H. Gonadal cell apoptosis. *Recent Prog Horm Res.* 1996;51:432-57

Huckins C: The morphology and kinetics of spermatogonial degeneration in normal adult rat: an analysis using a simplified classification of the germinal epithelium. *Anatomical Record*,1978;190:905

İliçin G., Biberoglu K, SÜleymanlar G. ve diğ. Temel İç Hastalıkları (2. Baskı) İstanbul: *Güneş Kitabevi*-2003; 2321-23

Ilokova H. Diabetes Mellitus. *İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Komisyonu* Yayın no:4, İstanbul-1997

İmamoğlu Ş, Akalın S, Yılmaz TM. Diyabet ve Siz. *İstanbul Ceren Tanıtım Ltd Şti* 1995

Inoguchi T, Sonta T, Tsubouchi H. ve diğ. Protein kinase-C dependent increase in reactive oxygen species (ROS) production in vascular tissues of diabetes Role of vascular NAD(P) H oxidase. *J.Am.Soc.Nephrol.* 2003;14(3):227-32

Inouyes S, Takizawa T, Yamaguchi H. Antibacterial activity of essential oils and their major constituents against respiratory tract pathogens by gaseous contact. *J Antimicrob Chemother* 2001; 47(5):565-73.I

International Union Pure Applied Chemistry (IUPAC), PubChem LCSS-CID 60823

Jerfferson KP, Persad RA, Holly MP. Apoptosis and relevance to urologists. *Br J Urol* 2000;86:598-606

Junquera LC, Carneiro J, Kelley OR. Basic Histology: Text and Atlas, (15th ed.), Ch.19: The Urinary System, Ch.21: The Male Reproductive System. *McGraw-Hill Education*, 2018; 332-42, 371-81

Kahn R, Weir C, King L ve diğ. Jaslin's Diabetes Mellitus (14th ed.) (V. Yumuk çev.) İstanbul: *İstanbul Medikal Yayıncılık Ltd Şti* 2008; 333-48

Kanter M, Aktaş C, Erbağa M. Protective effects of quercetin against apoptosis and oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rat testis. *Food Chem Toxicol* 2012;50(3-4):719-25

Karşıdağ K, Yenigün M, Altuntaş Y. Hipoglisemi: Her yönüyle diyabet. (2. Baskı) İstanbul:Nobel Tıp Kitabevi-2001

Kayalı H, Şatıroğlu G, Taşyürekli M. İnsan Embriyolojisi (6. Baskı) Ürogenital sistem gelişimi. İstanbul: Evrim Basım-Yayım-Dağıtım A.Ş. 1989; 207-14

Keller K, Hansel R, De Smet P. Adverse effect of herbal drugs-Cinnamomum species (1st ed). Berlin: Springer-Verlag 1992; 105-114

Kerr JB. Spontaneous degeneration of germ cells in normal rat testis: assessment of cell types and frequency during the spermatogenetic cycle. *J Reprod Fertil* 1992;95:825-30

Keskin H. Besin Kimyası (4. Baskı, 2. Cilt) Fatih Yayınevi ve matbaası İstanbul: 1982

Kierszenbaum AL. Histology and Cell Biology: An Introduction to Pathology, Ch.6: The Reproductive System. 2015

Kılıçle PA, Doğan A, Yıldız Y ve diğ. Streptozotosin ile diyabet oluşturulan ratlarda tarçın ekstraktının mikronükleus sıklığı üzerine etkisi. *Kafkas Üniversitesi Fen Bil Enst Derg* (yayın no: 9-2A-12) 2016; 9(2):67-77

Kim HJ, Lee JW, Hwang BR ve diğ. Protective effect of pterostilbene on testicular ischemia/reperfusion injury in rats. *J Pediatr Surg*. 2016; 51(7):1192-6

Kim SH, Hyun SH, Choung SY. Anti-diabetic effect of cinnamon extract on blood glucose in db/db mice. *J Ethnopharmacol* 2006; 104(1-2):119-23

Klein R, Klein B. Epidemiology of proliferative diabetic retinopathy. *Diabetes Care*. 1992; 15:1875-91

Kockx MM, Muhring J, Knaapen MWM, de Meyer GRY. RNA synthesis and splicing interferes with DNA in situ end labeling techniques used to detect apoptosis. *Am J Pathol*,1998;152:885

Korsmeyer SJ. Regulators of cell death. *Reviews* 1995;11:101-105

Kort HI, Massey JB, Elsner CW ve diğ. Impact of body mass index values on sperm quantity and quality. *J Androl* 2006; 27(3): 450-452

Langtry HD, Balfour JA. A review of its use in the management of type 2 Diabetes Mellitus. Review. 1998; 55(4): 563-84

Lea AP, McTavish D. Atorvastatin. *Drugs*. 1997; 53(5):828-847

Leong K, Weston P. Diabetes Illustrated. London: *Current Medical Literature Ltd*-2001;17-21

Leung AY, Foster S. Encyclopedia of Common Natural Ingredients used in Food, Drugs and Cosmetics (2nd ed.) *New York: Wiley* 1996; 168-170

Ligtenberg PC, GOdaert GL, Hillenaar EF ve diğ. Influence of e physical training program on psychological well-being in elderly type 2 diabetes patients. *Diabetes Care*-1998; 21:2196-97

Lin C-C, Wu S-J, Chang C-H ve diğ. Antioxidant activity of *Cinnamomum cassia*. *Phytother Res*. 2003;17(7):726-30

Lipinski B. Pathophysiology of oxidative stress in diabetes mellitus. *J.Diabetes Its Complicat*. 2001; 15:203-210

Liptakova A, Carsky J, Ulicna O ve diğ. Influence of β -Resorcylicidene aminoguanidine on selected metabolic parameters and antioxidant status of rats with diabetes mellitus. *Physiol res*. 2002; 51:277-84

Long L, Qui H, Cai B ve diğ. Hyperglycemia induced testicular damage in typ2 diabetes mellitus rats exhibiting microcirculation impairments associated with vascular endothelial growth factor decreased vie PI3K/Akt pathway. *Ocrotarget*. 2018;9(4):5321-36

Lopez P, Sanchez C, Batlle R ve diğ. Solid- and vapor-phase antimicrobial activities of six essential oils: susceptibility of selected foodborne bacterial and fungal strains. *J Agric Food Chem* 2005; 53(17):6939-46

Lutchmansingh FK, Hsu JW, Bennet FI ve diğ. Glutathione metabolism in type 2 diabetes and its relationship with microvascular complication and glycemia. *PLoS One*. 2018;13(6):e0198626

Maclean JA, Wilkinson MF. Gene Population in Spermatogenesis (2nd Ed.) *Curr Top Dev Biol* 2005; 71:131-97

Maiti R, Janav D, Das UK. Antidiabetic effect of aqueous extract of seed of *Tamarindus Indica* in Streptozotocin-induced diabetic rats. *J Ethnopharm*. 2004;92:85-91

Mastura M, Nor Azah MA, Khozirah S ve diğ. Anticandidal and antidermatophytic activity of cinnamomum species essential oils. *Cytobios* 1999; 98(387):17-23

Meier CR, Schlienger RG, Kraenzlin ME ve diğ. HMG-CoA Reductase inhibitors and risk of fractures. *Jama*. 2000; 283(24):3205-10

Meyer KA, Kushi LH, Jacobs DR ve diğ. Carbohydrates, dietary fiber and incident type 2 diabetes in older women. *Am J Clin Nutr* 2000; 71:921-30

Mishra A, Bhatti R, Singh A, Ishar MPS. Ameliorative Effect of the Cinnamon Oil from *Cinnomomum zeylanicum* upon Early Stage Diabetic Nephropathy. *Planta Med*. 2010;76(5):412-7

Moore KL, Persaud TVN. Klinik Yönleriyle İnsan Embriyolojisi (8. Baskı) (Çev. H. Dalçık, M. Yıldırım) Bölüm 12: Ürogenital Sistem. *İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri* 2008; 262-72

Morad SAF. Pharmacological studies of a novel inhibitor of the mammalian target of rapamycin (mTOR) signaling pathway. *Ludwig Maximilians University, Faculty of Medicine*, 2010

Morris SM, Billiar TR. New insights into the regulation of inducible nitric oxide synthesis. *Am J Physiol* 1994;266(6):829-39

Murcia MA, Egea I, Romojaro F ve diğ. Antioxidant evaluation in dessert spices compared with common food additives. Influence of irradiation procedure. *J Agric Food Chem* 2004 Apr; 7:52(7):1875-81

Mushtaq H, Alam S, Khan MA. Histopathological Patterns of Testicular Biopsies in Male Infertility. *Journal of Islamabad Medical & Dental College (JIMDC)*;2013;2(4):81-86

Myers AR. Endokrin ve Metabolik Hastalıklar-NMS İç Hastalıkları (3. Baskı) İstanbul: *Nobel Tıp Kitabevi* 1998; 449-92

Naeimi RA, AMiri FT, Khalatbary AR ve diğ. Atorvastatin Migitates Testicular Injuries Induced by Ionizing Radiation in Mice. *Reproductive Toxicology*. 2017;72:115-21

Negoescu A, Labat-Moleur F, Defaye G ve diğ. Contribution of apoptosis to the phenotypic changes of adrenocortical cells in primary culture. *Mol Cell Endocrinol* 1995; 110:175–184

Nilsson BO. Biological effects of aminoguanidine: An update. *Inflamm Res*. 1999; 48(10): 509-15

Nistal M, Paniagua R. Testicular biopsy. Contemporary interpretation. *Urol Clin North Am* 1999; 26:555-93.

Nonaka G, Marimoto S, Nishioka I. Tannins and related compounds. Part 13. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transaction 1. The Royal Society of Chemistry*. 1983:2139

Olgun N. Hipoglisemi ve Hiperglisemi. *Diyabet Hemşireliği*. İstanbul: *Tavaslı Matbaacılık*-2002

Ortiz A, Cuadrado SV, Lorz C, Egido J. Apoptosis in renal diseases. *Front Biosci-Landmrk* 1996;1:30-47

Özata M, Yöner A. Endokrinoloji Metabolizma ve Diyabet. *İstanbul Medikal Yayıncılık Ltd Şti* (1. Baskı) 2006; 275-343

Özdemir İ. Deneysel diyabet oluşturulmuş sıçanların testis dokularında egzersizin koruyucu etkilerinin incelenmesi (Tez ref no: 452293) Edirne: *Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi*; 2012

Paker Ş. Histoloji. (2.Baskı) Erkek üreme sistemi histolojisi. *Bursa: Uludağ Üniversitesi Basımevi* 1993; 258-78

Pareek A, Yeole PG, Tenpe CR, Chandukar N, Payghan R. Effect of atorvastatin and hydroxychloroquine combination on blood glucose in alloxan-induced diabetic rats. *Indian J Pharmacol.* 2009;41(3):125-8

Parizadeh SM, Azarpazpooh MR, Moohebatı M. ve diğ. Simvastatin therapy reduces prooxidant/antioxidant balance: Results of a placebo-controlled cross-over trial. *Lipids.* 2011;46:333-40

Park J, Kwan OS, Cho SY ve diğ. Chronic administration of atorvastatin could partially ameliorate erectile function in streptozotocin-induced diabetic rats. *PLoS One.* 2017; 12(2): e0172751

Petorak İ. Medikal Embriyoloji (2. Baskı) *İstanbul: Beta Basım-Yayım-Dağıtım A.Ş.* 1989; 220-27

Poretzky L. Principles of Diabetes Mellitus (2nd ed.) *London: Springer-2010*

Pournaghi P, Sadrkhanlou RA, Hasanzadeh S, Foroughi A. An investigation on body weights, blood glucose levels and pituitary-gonadal axis hormones in diabetic and metformin-treated diabetic female rats. *Vet Res Forum.* 2012;3(2):79-84

Premanhattan M, Rajendran S, Ramanathan T ve diğ. A survey of some Indian medicinal plants for anti-human immunodeficiency virus (HIV) activity. *Indian J Med Res* 2000; 112:73-7

Rajasekaran S, Sivagnanam K, Subramanian SP. Antioxidant effect of Aloe vera gel extract in streptozotocin-induced diabetes in rats. *Pharmacol Rep* 2005; 57(1):90-96

Ramlau-Hansen CH, Thulstrup AM, Aggerholm AS ve diğ. Is smoking a risk factor for decreased semen quality? A cross-sectional analysis. *Hum Reprod.* 2007; 22(1):188-96

Ritz E, Rychlik I. *Nephropathology in Type 2 Diabetes.* Oxford: *Oxford Press-1999;* 45-50

Robins C. Temel Patoloji, Endokrin Sistem Hastalıkları (3. Baskı) *İstanbul:Nobel Tıp Kitabevi Ltdi Şti-1995;*643-80

Rodrigues B, Poucheret P, Battell ML ve diğ. Streptozotocin-induced diabetes induction, mechanism and dose dependency. In: *Experimental Models of Diabetes*. (Ed. McNeill JH) CRC Press LLC, Boca Raton 1999; 3-4

Rosemond Z, Chou S, Wilson J ve diğ. Toxicological profile for styrene. *US Public Heal Serv Agency Toxic Subst Dis Regist* 2010

Ross HM, Pawlina W. Histology: A Text and Atlas., (6th Ed.) Ch.: Male Reproductive System. 2011

Ross HM, Romrell JL. Histology: A Text and Atlas., (7th Ed.) Ch.22: Male Reproductive System. 2016; 600-80

Roussel AM, Hininger I, Benaraba R ve diğ. Antioxidant Effects of a Cinnamon Extract in People with Impaired Fasting Glucose that are Overweight or Obese. *J Am Coll Nutr*. 2009;28(1):16-21

Sadler TW. Langman's Medikal Embriyolojisi (11. Baskı) Ch.16: Ürogenital Sistem. (Çev. A.Ç. Başaklar) *Ankara: Palme Yayıncılık* 2011; 328-49

Sahebkar A, Kotani K, Serban C. ve diğ. Statin therapy reduces plasma endothelin-1 concentrations: A meta-analysis of 15 randomized controlled trials. *Atherosclerosis*. 2015;241;433-442.

Sahebkar A, Serban C, Mikhailidis DP. ve diğ. Association between statin use and plasma d-dimer levels: A systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials. *Thromb. Haemost.* 2015;114:546-557.

Sahebkar A, Serban C, Ursoniu S. ve diğ. The impact of statin therapy on plasma levels of von Willebrand factor antigen: Systematic review and meta-analysis of Randomised placebo-controlled trials. *Thromb. Haemost.* 2016;115:520-32

Sainio-Pollanen S, Saari T, Simell O, Pollanen P. CD28-CD80/CD86 interactions in testicular immunoregulation. *J Reprod Immunol*. 1996; 31:145-63

Sanguinetti RE, Ogawa K, Kurohmaru M ve diğ. Ultrastructural changes in mouse Leydig cells after Streptozotocin administration. *Exp Anim* 1995; 44(1): 71-3

Satman İ, İmamoğlu Ş, Yılmaz C. Diabetes Mellitus ve Komplikasyonlarının Tanı, Tedavi ve İzlem Kılavuzu (4. Baskı). Ankara: *Ankara Bayt Bilimsel Araştırmalar Basın Yayın Şti*-2009; 15-28, 95-126

Sathyapalan T, Sherhard J, Coady AM ve diğ. Atorvastatin Reduces Malondialdehyde Concentrations in Patients with Polycystic Ovary Syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*. 2012;97(11):3951-5

Save V, Patil N, Moulik N ve diğ. Effect of Atorvastatin on Type 2 Diabetic Dyslipidemia. *JCPT*. 2006;11(4)

Schmidt L, Munster K. and Hehn P. Infertility and the seeking of infertility treatment in a representative population. *Br J Obstet Gynaecol*, 1995;102:978

Schoene NW, Kelly MA, Polansky MM ve diğ. Water-soluble polymeric polyphenols from cinnamon inhibit proliferation and alter cell cycle distribution patterns of hematologic tumor cell lines. *Cancer Lett* 2005; 230(1)Ç134-40

Schoenwolf GC, Bleyl SB, Brauer PR, Francis-West PH. Larsen's Human Embryology (4th Ed.) Ch.16: Development of reproductive system. UK: *Churchill Livingstone* 2008; 503-14
Schooling CM, Yeung SLA, Freeman G, Cowling BJ. The effect of statins on testosterone in men and women, a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *BMC Med*. 2013;11:57

Scobie IN. Acute complications of diabetes-an atlas of Diabete Mellitus. *The Pharthenon Publishing* New York-1998;22-29

Scobie IN. Atlas of Diabetes Mellitus (3rd ed.) UK:*Informa UK Ltd*-2007;1-14, 63-69

Seethalakshmi L, Menon M, Diamond D. The effect of streptozotocin-induced diabetes on the neuroendocrine-male reproductive tract axis of the adult rat. *J Urol* 1987;138:190-4.

Şeftalioğlu A. Genel ve Özel İnsan Embriyolojisi (3. Baskı) *Ankara: Tıp & Teknik Yayıncılık Ltd. Şti* 1998; 346-54

Serban C, Sahebkar A, Ursoniu S. ve diğ. A systematic review and metanalysis of the effect of statins on plasma asymmetric dimethylarginine concentrations. *Sci.Rep.* 2015;5:9902

Sezton WJ, Jarow JP. Effect of diabetes mellitus upon male reproductive function. *Urology.* 1997; 49:508-13

Sgonc R, Wick G ve diğ. Simultaneous determination of cell surface antigens and apoptosis. *Trends Immunol Genet.*1994; 10:41-42

Sharpe RM. Regulation of spermatogenesis in the physiology of reproduction (Edited by: Knobil E, Neill JD) *New York: Raven Press* 1994;1364-434

Shokri G, Fathi H, Sabet MJ, Nasrabadi NN, Ataee R. Evaluation of anti-diabetic effects of hydroalcoholic extract of green tea and cinnamon on streptozotocin-induced diabetic rats. *Pharmaceutical and Biomedical Research (PBR).* 2015;2(1):20-9

Simic A, Sokovic MS, Ristic M ve diğ. The chemical composition of some Lauraceae essential oils and their antifungal activities. *Phytother Res* 2004; 18(9):713-7

Singh HB, Srivastava M, Singh AB ve diğ. Cinnamon bark oil, a potent fungi-toxicant against fungi causing respiratory tract mycoses. *Allergy.* 1995; 50(12):995-9.

Sinha Hikim AP, Wang C, Lue Y, Johnson L, Wang X-H, Swerdloff RS. Spontaneous germ cell apoptosis in humans evidence for ethnic differences in the susceptibility of germ cells to programmed cell death. *J Clin Endoc Metab* 1998;83:152.

Sisman AR, Kiray M, Camsari UM ve diğ. Potential Novel Biomarkers for Diabetic Testicular Damage in Streptozotocin-Induced Diabetic-Rats: Nerve Growth Factor Betaand Vascular Endothelial Growth Factor. *Dis Markes.* 2014;2014:108106.

Srinivasan K, Viswanad B, Asrat L ve diğ. Combination of high-fat diet-fed and low-dose streptozotocin-treated rat: a model for type 2 diabetes and pharmacological screening. *Pharmacol Res.* 2005;52(4):312-20.

Stancu C, Sima A. Statins: Mechanism of action and effects. *Journal of Cellular and Molecular Medicine.* 2001; 5(4):378-387

Streger RW, Rabe MB. The effect of Dİabetes Mellitus on endocrine and reproductive function. *Proc Soc Exp Biol Med* 1997; 214(1):1-11

Tanaka T, Hatsuo Y, Yamadı Y ve diğ. Structure of polymeric polyphenols of cinnamon bark deduced from condensation products of cinnamaldehyde with catechin and procyanidins. *J Agric Food Chem* 2008; 56(14):5864-70

Türkiye Diyabet Vakfı, 2015

Uluslararası Diyabet Federasyonu (IDF), 6. Diyabet Atlası, 2015

Usta A, Dede S, Çetin S. Deneysel Diyabetli Ratlarda Timokinon Uygulamasının Doku Total Oksidan ve Antioksidan Düzeyine Etkisi. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*. 2018; 13(1):84-91

Uzar E, Tamam Y, Evliyaoğlu O ve diğ. Serum Prolidase Activity and Oxidative Status in Patients with Diabetic Neuropathy. *Neurological Sciences*. 2012; 33(4):875-80

Wassmann S, Laufs U, Baumer AT. ve diğ. HMG-CoA reductase inhibitors improve endothelial dysfunction in normochoesterolemic hypertension via reduced production of reactive oxygen species. *Hypertension*. 2001;37:1450-7

Wu L. Parhofer, K.G. Diabetic dyslipidemia. *Metabol.-Clin. Exp*. 2014, 63, 1469–1479.

Wu X, Cheng B, Cai ZD, Lou LM. Determination of the apoptotic index in osteosarcoma tissue and its relationship with patients prognosis. *Cancer Cell Int*. 2013;13:56

www.relassay.com/product-detail-total-antioxidant-status-assay-kit.html

Yılmaz C, Yılmaz MT, Mamoğlu AZ. Diyabet. *İstanbul Gri Tasarım Baskısı-2000*

Yina H, Coxa BE, Liub W ve diğ. Identification of inact oxidation products of glycerophospholipids in vitro and in vivo using negative ion electrospray iontrap massspectrometry. *J Mass Spectrom*. 2009;44(5):672-80

Young B, Heat JW. Weather' s Functional Histology: A Text and Colour Atlas (4th Ed.) Ch.18: Male Reproductive System. *London: Churchill Livingstone* 2000; 328-39

Yuncu M, Bukucu N, Bayat N ve diğ. The effect of vitamin-E and L-carnitine against methotrexate-induced injury in rat testis. *Turkish J Med Sci.* 2015;45:517-525

Zini A, Agarwal A. Sperm Chromatin: Biological and Clinical Applications in Male Infertility and Assisted Reproduction. *Springer*, 2011; Ch 2.: Spermatogenesis: An Overview

Zipprich K, Canzler E, Hundsdörfer S. Teratogenic effect of coumarins. 1987; 109(6): 364-8.



ÖZGEÇMİŞ

1) Bireysel Bilgiler

Ad-Soyad: Sezgi AKBAL

Doğum Yeri ve Tarihi: İstanbul, 02/01/1994

Uyruğu: T.C.

Medeni Durumu: Bekar

Askerlik Durumu: -

Çalıştığı Kurum: Bahçeşehir Koleji

İletişim Adresi: Yahyakaptan Mahallesi GÜndönümü Sk. A16 Blok D30 İzmit/KOCAELİ

Telefon: 0506 428 4180

2) Eğitim Bilgileri

1. devam: Lisans/Kocaeli Üniversitesi Spor Bilimleri Fakültesi - Beden Eğitimi Öğretmenliği

2. 2016-devam: Yüksek Lisans/Kocaeli Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı

2014-2015: Lisans/Vigo Üniversitesi Doğa Bilimleri Fakültesi Biyoloji

2011-2016: Lisans/Gebze Teknik Üniversitesi Temel Bilimler Fakültesi Moleküler Biyoloji ve Genetik

2007-2011: Lise/Ankara Gazi Anadolu Lisesi

3) Yabancı Dil Bilgileri

İngilizce: C1 (YÖKDİL 87)

İspanyolca: B2

4) Beceriler

Bilgisayar Programlama - C Programming

Türk İşaret Dili

ALES: 84.53 (Sayısal)

Deney Hayvanları Kullanımı Kursu (2016)

STEM (2019)

5) Proje Görevleri

1. Proje : 2017/092 nolu projede Araştırmacı; Farklı tedavi uygulanan diyabetik erkek sıçanların testislerinin immunohistokimyasal ve biyokimyasal parametrelerinin incelenmesi.
2. Proje : 2017/HD nolu projede Araştırmacı; Diyabetik sıçan deney modelinde farklı tedavi yöntemlerinin karaciğer dokusu üzerine etkilerinin histolojik ve biyokimyasal yöntemlerle incelenmesi.

6) Bildirileri

- 1) Aymen Balıkcı, Gul İlbay ve diğ. Abstract Number: F18-0482. Neonatal tactile stimulation changes dendritic spine densities in the somatosensory cortex and spike-wave seizures in adult WAG/Rij rats with genetic predisposition to absence epilepsy. *11th FENS Forum of Neuroscience*, Berlin, 7-11 July 2018. (Poster Presentation).
2. Sezgi Akbal, Melda Yardımcıoğlu, Ceyla Eraldemir, Esra Acar, ığdem Vural, Umay Kiraz. Diyabetik Sıçan Modelinde Farklı Tedavi Yöntemlerinin Böbrekler Üzerine Etkilerinin Histopatolojik ve Biyokimyasal Olarak İncelenmesi. 24. Ulusal Elektron Mikroskopi Kongresi (Uluslararası Katılımlı), EMK2019 Özet pdf, Edirne, 24-26 Nisan 2019. (Poster sunumu).

7) Seminerleri

Sinir Dokusu Boyama Yöntemleri. Histoloji-Embriyoloji Yüksek Lisans Semineri. 2017.

Etik Kurul Onayı: 22 Haziran 2017

Sayı: KOÜ HADYEK 6/3 - 2017

T.C. KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ		HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU	
PROJE NO: 2017/23	ARAŞTIRMANIN ADI	Farklı tedavi uygulanan diyabetik erkek sıçanların testislerinin immunohistokimyasal ve biyokimyasal parametrelerinin incelenmesi.	
	SORUMLU ARAŞTIRMACI ÜNVANI/ADI KURUMU	Prof.Dr.Melda Yardımoğlu Yılmaz	
	YARDIMCI ARAŞTIRMACILAR	Lisansüstü öğrenci Sezgi Akbal, Yrd.Doç.Dr. Fatma Ceyla Eraldemir.	
BAŞVURU BİLGİLERİ	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ ve EKLERİ	x	
DEĞERLENDİRİLEN BELGE	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ ve EKLERİ	x	
KARAR BİLGİLERİ	Yukarıda başvuru bilgileri bulunan araştırma projesi Kocaeli Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Yönergesine dayanarak gerekeç, amaç, yaklaşım ve yöntemler açısından incelenmiş olup, araştırmanın yürütülmesinin etik açıdan uygun olduğu kararına varılmıştır. KARAR NO: KOÜ HADYEK 6/3-2017 KARAR TARİHİ: 22.06.2017		
ETİK KURUL ÜYELERİ			
UNVANI/ADI SOYADI ETİK KURUL GÖREVİ	BİRİMİ	TOPLANTIYA KATILMA	KARARA KATILMA İMZA
Prof. Dr. Hüsnü EFENDİ Başkan	Kocaeli Üniversitesi (KOÜ) Tıp Fakültesi Nöroloji AD	<input checked="" type="checkbox"/> Katıldı <input type="checkbox"/> Katılmadı	
Doç. Dr. Mine ŞEHİRALTI Başkan Vekili	KOU Tıp Fakültesi Tıp Tarihi ve Deontoloji AD	<input checked="" type="checkbox"/> Katıldı <input type="checkbox"/> Katılmadı	
Veteriner Hekim Cüneyt Özer Raportör	KOU Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Birimi	<input checked="" type="checkbox"/> Katıldı <input type="checkbox"/> Katılmadı	
Prof. Dr. Tijen UTKAN Üye	KOU Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Birimi Tıp Fakültesi Farmakoloji AD	<input type="checkbox"/> Katıldı <input type="checkbox"/> Katılmadı	
Yrd. Doç. Dr. Sabri CORA Üye	KOU Dış Hekimliği Fakültesi Endodonti AD	<input checked="" type="checkbox"/> Katıldı <input type="checkbox"/> Katılmadı	
Yard. Doç. Dr. Fevzi UÇKAN Üye	KOU Fen-Edebiyat Fakültesi Genel Biyoloji AD	<input type="checkbox"/> Katıldı <input type="checkbox"/> Katılmadı	
Prof. Dr. Zafer CANTÜRK Üye	KOU Tıp Fakültesi Genel Cerrahi AD	<input type="checkbox"/> Katıldı <input type="checkbox"/> Katılmadı	
Prof. Dr. Melda YARDIMOĞLU YILMAZ Üye	KOU Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji AD	<input type="checkbox"/> Katıldı <input type="checkbox"/> Katılmadı	
Doç. Dr. Canan BAYDEMİR Üye	KOU Tıp Fakültesi Biyostatistik ve Tıbbi Bilgi AD	<input checked="" type="checkbox"/> Katıldı <input type="checkbox"/> Katılmadı	
Yard. Doç. Dr. Gürler AKPINAR Üye	KOU Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD	<input checked="" type="checkbox"/> Katıldı <input type="checkbox"/> Katılmadı	
Veteriner Hekim Akın Ziya ÜNAL Üye	Hayvan Hakları Derneği Veterinerler Odası	<input type="checkbox"/> Katıldı <input type="checkbox"/> Katılmadı	
Asiye ASLAN Üye	Emekli Öğretmen	<input type="checkbox"/> Katıldı <input type="checkbox"/> Katılmadı	

Kocaeli Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Sekreterliği, Umutepe Yerleşkesi, Eski İstanbul Yolu 10.km, 41380 Umutepe / İZMİT
Tel: 0 262 303 70 15; - Faks: 0 262 303 70 03

Tez Denetleme Listesi

- Kapak ve iç kapak sayfalarında BİLİM UZMANLIĞI ya da DOKTORA şeklinde elde edilen unvanlar yazıldı (Kapak sayfasına danışman adı yazılmamalıdır).
- Kapak sayfasına mezun olunan PROGRAMIN (Anabilim dalının değil) adı yazıldı.
- Tez kapağı sırt kısmına kılavuzda belirtilen çizimde (yazının yönüne dikkat!) ad, program,yıl yazıldı.
- Onay sayfası uygun çizimde hazırlandı (kazanılan unvanlar BİLİM UZMANLIĞI ya da DOKTORA olmalıdır) imzalatıldı (Enstitü Müdürü'nün imzası da gereklidir, imzaların aynı renk kalemle atılmasına dikkat edilmelidir).
- Dizinler kılavuzda belirtildiği gibi sıralandı.
- Ön sayfalara i, ii, iii şeklinde Roma rakamları konuldu.
- Sayfa numaraları kılavuzda belirtildiği şekilde konuldu.
- Sayfa düzeni kılavuzda belirtildiği şekilde yapıldı.
- Ana metin yazı boyutu 12 olacak biçimde basıldı.
- Dipnot yazı boyutu 10 olacak şekilde basıldı.
- Ana metin satır aralığı 1.5 olacak şekilde yazıldı.
- Kaynaklar abecesel sıralamaya göre yazıldı.
- Kaynak gösterme ilkelerine ve yazım kurallarına uyuldu.
- Ekler kılavuzda belirtildiği gibi verildi.

... / ... / 2019

Danışman: Prof. Dr. Melda YARDIMOĞLU YILMAZ

İmza