



KKTC

YAKIN DOĞU ÜNİVERSİTESİ

**DENEYSEL DİYABET OLUŞTURULMUŞ SIÇANLARDA,
CORCHORUS OLİTORİUSUN TESTİS DOKUSU ÜZERİNDEKİ
ETKİLERİNİN IŞIK MİKROSKOPİK OLARAK İNCELENMESİ**

NEDİME MERCAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN

Prof. Dr. AYSEL KÜKNER

2020-LEFKOŞA



KKTC

YAKIN DOĞU ÜNİVERSİTESİ

**DENEYSEL DİYABET OLUŞTURULMUŞ SIÇANLARDA,
CORCHORUS OLİTORİUSUN TESTİS DOKUSU ÜZERİNDEKİ
ETKİLERİNİN İŞIK MİKROSKOPİK OLARAK İNCELENMESİ**

NEDİME MERCAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN

Prof. Dr. AYSEL KÜKNER

2020-LEFKOŞA

YAKIN DOĞU ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE

Bu alışma jürimiz tarafından Histoloji ve Embriyoloji Programında Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Üye (Jüri Başkanı/Danışman): Prof. Dr. Aysel KÜKNER

Yakın Doğu Üniversitesi Tıp Fakültesi

Üye:

Prof. Dr. Gamze MOCAN (Sınava Giremedi)

Yakın Doğu Üniversitesi Tıp Fakültesi

Üye:

Prof. Dr. Candan ÖZOĞUL

Girne Üniversitesi Tıp Fakültesi

Üye (Yedek):

Prof. Dr. Nurhayat GÜLMEZ

Yakın Doğu Üniversitesi Veteriner Fakültesi

Üye (Yedek):

Prof. Dr. Engin ALGÜNER

Girne Üniversitesi Tıp Fakültesi

ONAY:

Bu tez, Yakın Doğu Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri üyeleritarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Hüsnü Can BAŞER

Sağlık Bilimleri Enstitü Müdürü

YÖNERGEYE UYGUNLUK VE ONAY

‘Deneysel Diyabet Oluşturulmuş Sıçanlarda, Corchorus Olitoriusun Testis Dokusu Üzerindeki Etkilerinin Işık Mikroskopik Olarak İncelenmesi’ isimli Yüksek Lisans Tezi Yakın Doğu Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi’ ne uygun olarak yazılmıştır.

Tezi Hazırlayan

Nedime MERCAN

Danışman

Prof. Dr. Aysel KÜKNER

Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Başkanı

Prof. Dr. Aysel KÜKNER

BEYAN

‘Deneysel Diyabet Oluşturulmuş Sıçanlarda, Corchorus Olitoriusun Testis Dokusu Üzerindeki Etkilerinin Işık Mikroskopik Olarak İncelenmesi’ isimli tez çalışmamın, deney aşamasından, tez yazım aşamasına kadar geçen süre boyunca etik dışı hiçbir davranışımın olmadığını, tezimdaki bütün bilgilerimi danışman hocamın ve kendimin akademik ve deneysel çalışmamıza dayanarak yazdđımı, destek aldığım tüm bilgi ve açıklamalara referens gösterdiğimi beyan ederim.

Nedime MERCAN

TEŞEKKÜR

Kıbrıslı bir genç olarak hayal bile edemediğim tez konumu seçmemde, seçtiğimin bu konuyu deneyimde uygulamamda bana yardımcı olup yoluma ışık tutan, deney süresince ve tez yazımında motive eden tez danışmanım canım hocam Prof.Dr.Aysel Kükner'e,

Bir hocadan çok ablamız gibi bana içten, samimi davranan, laboratuvar tecrübelerini bana aktaran deney sürecimin birçok adımında yanımda olan Öğretim Görevlisi Pelin Toros ve Gizem Söyler'e, Deney Hayvanları Araştırma Merkezi (DEHAM) Sorumlu Veteriner Hekimi, deney hayvanlarını ile bilimsel araştırma yapmak adına, etik kurallar çerçevesinde bize elinden gelenin de fazlasını yaparak deney sürecimize büyük katkı koyduğu için, değerli hocam Meliha Melis Temizel'e, Corchorus Olitorius (Molehiya) ekstraktının hazırlanışında bana yardımını hiç esirgemeyen, ekstrak hazırlanışında benimle yakından ilgilenip kılavuz olan Prof.Dr. İhsan Çalış'a ve Dr. Azmi Hanoğluna,

Tüm yollarımda olduğu gibi, bilim yolunda da beni hiç yalnız bırakmayan, maddi manevi her türlü desteğini benden esirgemeyen, her zaman başarılı olmamı isteyen annem İLTER MERCAN ve babam ARİF MERCAN 'a,

Sevgisi ve şefkati ile beni destekleyen, motive eden nişanlım MEHMET YARAMAZ 'a, Beni biryerlerden izleyen amcam MUSTAFA MERCAN 'a

Teşekkürü bir borç bilirim.

Bu tez YDÜ BAP Komisyonu tarafından (Proje No:SAG-2018-01-043) proje ile desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

YÖNERGEYE UYGUNLUK ve ONAY.....	iv
BEYAN.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
KISALTMALAR.....	x
ŞEKİLLER.....	xii
TABLOLAR.....	xvi
1. GİRİŞ.....	6
2. GENEL BİLGİLER.....	8
2.1. Erkek Üreme Sistemi Anatomisi	9
2.1.1. Testis.....	9
2.1.2. Epididimis.....	10
2.1.3. Duktus Deferens.....	10
2.2. Erkek Üreme Sistemi Embriyoloji.....	10
2.2.1. Testislerin Gelişimi.....	14
2.3. Erkek Üreme Sistemi Fizyoloji.....	14
2.3.1. Kan Testis Bariyeri.....	13
2.3.2. Spermatogenesis	15

2.3.3. Testisten Sonra Spermiyumların Gelişimi.....	15
2.4. Erkek Üreme Sistemi Histoloji.....	16
2.4.1. Testisler.....	16
2.4.2. Seminifer Tübüller.....	17
2.4.3. Spermatogenetik Hücreler.....	19
2.4.4. Sertoli Hücreleri.....	20
2.4.5. Spermatogenez.....	20
2.4.6. Matür Spermin Yapısı.....	26
2.4.7. Erkek Boşaltım Kanal Sistemi.....	27
2.5. Diyabetes Mellitus (DM)	31
2.6. Sperm Hücresindeki Glukoz Metabolizması.....	35
2.7. Oksidatif Stres	39
2.8. Deneysel Diyabet Modeli Oluşturma	42
2.9. Corchorus Olitorius	45
2.10. Protocatechuic Acid	49

3.GEREÇ VE YÖNTEM.....	50
3.1. Corchorus Olitorius Bitkisinin Elde Edilmesi.....	51
3.2. Corchorus Olitorius Ekstaraktının Hazırlanışı.....	52
3.3. STZ'nin Hazırlanışı.....	55
3.4. PCA'nın Hazırlanışı.....	55
3.5. Deney Grupları.....	56
4. BULGULAR.....	64
4.1. Kişisel Gözlem.....	64
4.2. Deneklerin Deney Öncesi Ve Sonrası Vücut Ağırlıkları, Deney sonrası testis ağırlıkları.....	64
4.3. Deney Öncesi ve Sonrası Kan Glukoz Düzeyleri.....	68
4.4. TUNEL Boyaması.....	74
4.5. Işık Mikroskopik Bulgular.....	75
5. TARTIŞMA.....	88
6. SONUÇLAR.....	95
7. KAYNAKÇA.....	96
8.EKLER.....	111
9.ÖZGEÇMİŞ.....	113

KISALTMALAR

DM: Diyabetes Mellitus

ADA: Amerikan Diyabet Birliği

SGLT: Sodyum Bağımlı Glukoz Taşıyıcıları

GLUTs: Glukoz Taşıyıcıları

WHO: World Health Organisation

HbA1c: Glikolize Edilmiş Hemoglobin

ABP: Androjen Bağlayıcı Protein

OGTT: Glukoz Tolerans Test

Tip Ad: Koyu olan spermatogonyumlar

Tip Ap: Açık spermatogonyumlar

ROS: Reaktif Oksijen Türlerine

GSH-PX: Glutasyon peroksidaz

CAT: Katalaz

SOD: Süperoksit dismutaz

GSH-RD: Glutasyon redüktaz

C.O: Corchorus Olitorius

STZ: Streptozotosin

TDF: Testis Determining Factor

AMH: Anti Müllerian Hormon

FSH: Follicule Stimulating Hormon

ES: Erkek reme Sistemi

PCA: Protocatechuic Acid

ŞEKİLLER

Şekil 2.1. Erkek Üreme Sistemi anatomisinin bileşenleri.....	7
Şekil 2.2. Farklılaşmamış gonadların görüntüsü.....	10
Şekil 2.3. Primordiyal cinsiyet hücrelerinin allantoise doğru göçü sırasında, gonadların görüntüsü.....	11
Şekil 2.4. Erkek yönünde farklılaşmış gonadların görüntüsü.....	13
Şekil 2.5. Seminifer tübüllerin yapısı ve içerdiği hücreler.....	18
Şekil 2.6. Spermatogenez işlemi.....	22
Şekil 2.7. Spermatid oluşum aşamaları.....	25
Şekil 2.8. Spermin yapısı.....	26
Şekil 2.9. Erkek boşaltım kanal sistemi.....	27
Şekil 2.10. Diyabetes Mellitus komplikasyonları.....	33
Şekil 2.11. Diyabetes Mellitus tipleri ve oluşum mekanizmaları.....	34
Şekil 2.12. İnsan sperm hücresi üzerinde yer alan glukoz taşıyıcı membran proteinleri ve bunların sperm üzerindeki konumları.....	36
Şekil 2.13. Seminifer tübüllerde yer alan kan testis bariyeri gösterilmiştir.....	37
Şekil 2.14. GLUT 1 ve GLUT 3 aracılığıyla hücre içine glikoz alımı ve bu sırada oluşan biyokimyasal mekanizma gösterilmektedir.....	38
Şekil 2.15. STZ' nin kimyasal formülü.....	43
Şekil 2.16. Alloksan'ın kimyasal formülü.....	44

Şekil 2.17. Kimyasal yolla deneysel diyabet oluşturulması sırasında kan glukoz seviyesinde meydana gelen değişiklikler.....	45
Şekil 2.18. Corchorus olitorius taze hali.....	49
Şekil 2.19. Corchorus olitorius'un kurutulmuş hali.....	49
Şekil 2.20. PCA'nın biyosentezi.....	50
Şekil 3.1. Corchorus Olitorius'un yapraklarının ayıklandığı sıradaki görüntüsü.....	51
Şekil 3.2. Ayıklanan Corchorus Oliterius'un kurutulmuş şekli.....	52
Şekil 3.3. Değirmende öğütülen Corchorus Olitoriusün toz hali.....	52
Şekil 3.4. Perkülatörde bekletilen C.O'nun görüntüsü.....	53
Şekil 3.5. Rotary evaporatörde uçurulan CO.....	54
Şekil 3.6. Deneklerin ayrıldığı gruplar ve yapılan analizlere ait deney şeması.....	58
Şekil4.1. Deneklerin deney öncesi kan glukoz seviyelerinin mean değerleri.....	70
Şekil 4.2. Deneklerin deney sonrası kan şekerlerinin mean değerleri.....	70
Şekil 4.3. Deney öncesi ve sonrası STZ grubunun kan glukoz değerleri.....	71
Şekil 4.4. Deney öncesi ve sonrası STZ + PCA grubunun kan glukoz değerleri.....	71
Şekil 4.5. Deney öncesi ve sonrası STZ + CO grubunun kan glukoz değerleri.....	72
Şekil 4.6. Deney öncesi ve sonrası PCA grubunun kan glukoz değerleri.....	72
Şekil 4.7. Deney öncesi ve sonrası CO grubunun kan glukoz değerleri.....	73

Şekil 4.8. Deney öncesi ve sonrası Kontrol grubunun kan glukoz değerleri.....	73
Şekil 4.9. Deney gruplarında TUNEL (+) hücrelerin dağılımı.....	75
Şekil 4.10. Kontrol testis dokusu.....	77
Şekil 4.11. Kontrol testis dokusu.....	77
Şekil 4.12. Sadece CO verilen grup.....	78
Şekil 4.13. Sadece PCA verilen grup.....	78
Şekil 4.14. Kontrol grubu bazal membran yapısı.....	79
Şekil 4.15. Sadece CO verilen grupta bazal membran yapısı.....	79
Şekil 4.16. Sadece PCA verilen grupta bazal membran yapısı.....	80
Şekil 4.17. Diyabetik gruba ait seminifer tübülleri.....	80
Şekil 4.18 Diyabet gruba ait yapısı bozulmuş seminifer tübüller ve multiveziküler hücreler.....	81
Şekil 4.19. Diyabetik grupta seminifer tübül lümeninde dökülmüş hücre toplulukları.....	81
Şekil 4.20. STZ ile diyabet yapılan grup seminifer tübüllerinde belirgin vakuolizasyon....	82
Şekil 4.21. Diyabetik grup testislerinde intertisyal aralıklarda belirgin sıvı birikimi.....	82
Şekil 4.22. Diyabet+ PCA verilen gruba ait testis dokusunda seminifer tübülleri...	83

Şekil 4.23. Diyabet oluşturulup CO verilen gruba ait testis dokusu.....	83
Şekil 4.24. Diyabet+PCA verilen grupta seminifer tübüller.....	84
Şekil 4.25. Diyabet + CO grubuna ait testis dokusunda ara bağ doku artışı görülmemektedir.....	84
Şekil 4.26. Diyabetik testis dokusunda seminifer tübül bazal membran kalınlığı...	85
Şekil 4.27. Diyabet + PCA verilen grupta bazal membran yapısı.....	85
Şekil 4.28. Diyabet+ CO verilen grupta bazal membran yapısı.....	86
Şekil 4.29. Kontrol grubunda seminifer tübüllerde TUNEL(+) boyama.....	86
Şekil 4.30. Diyabetik grupta TUNEL (+) boyama.....	87
Şekil 4.31. Diyabet + PCA verilen grupta TUNEL (+) boyama.....	87
Şekil4.32. Diyabet + CO verilen grupta TUNEL boyama.....	88

TABLÖLAR

Tablo 2.1 Glukoz taşıyıcı membran proteinleri.....	35
Tablo 2.2. Oksidanlar ve Antioksidanların özeti.....	42
Tablo 2.3. Corchorus Olitorius içerisinde yer alan bileşenler.....	48
Tablo 3.1. CO'nun HPLC sonucu bileşenleri.....	54
Tablo 4.1. STZ, STZ+PCA, STZ+CO, PCA, CO ve kontrol grubuna ait deneklerin deney öncesi ve deney sonrası vücut ağırlıkları ve sağ testis ağırlıklarının mean ve sd değerleri.....	65
Tablo 4.2. Deneklerin deney öncesi ve deney sonrası vücut ağırlıklarının Median değerleri.....	66
Tablo 4.3. Deneklerin deney sonu sağ testis ağırlıklarının median değerleri.....	67
Tablo 4.4. Deney önce ve sonrası tüm grupların p değerlerinin birbirleri ile karşılaştırılması.....	68
Tablo 4.5. Deneklerin deney öncesi ve sonrası kan glukoz düzeyleri (mg/dL)...	69
Tablo 4.6. Gruplarda TUNEL (+) boyanmış apoptotik hücre sayıları.....	74

**Deneysel diyabet oluşturulmuş sıçanlarda, corchorus olitorius testis dokusu
üzerindeki etkilerinin ışık mikroskopik olarak incelenmesi**

Nedime MERCAN

Danışman:

Prof. Dr. Aysel KÜKNER

Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı

ÖZET

Amaç: Çalışmanın amacı, STZ (Streptozotosin) ile deneysel diyabet oluşturulmuş sıçan testis dokularında ortaya çıkan değişikliklere antioksidan etkili Protocatechuic asit (PCA) ve Kuzey Kıbrıs'ta molehiya olarak bilinen antioksidan etkili Corchorus olitorius'un (CO), diyabetin testis dokusunda olası koruyucu etkilerinin olup olmadığının ışık mikroskopik olarak incelenmesidir.

Gereç ve Yöntem: Çalışmada toplam 42 adet, 2-3 aylık Wistar Albino erkek sıçan kullanılmıştır. Çalışmadaki gruplar; Diyabetes Mellitus Grubu, Diyabetes Mellitus + Corchorus Olitorius Grubu, Diyabetes Mellitus + PCA, Corchorus Olitorius Grubu, PCA grubu ve Kontrol grubu olmak üzere düzenlenmiştir. Diabet oluşturmak için 60 mg/kg (STZ) (0.1molar sitrat buffer'da (pH=4.5) çözülmüş eriyikten 0.5ml/kg vücut ağırlığı) intraperiotenal tek doz olarak uygulanmıştır. STZ enjeksiyonundan 48 saat sonra kuyruk veninden kan alınarak glukoz düzeyine kit ile bakılmıştır ve 250 mg/dl ve üzeri sıçanlar diyabet olarak kabul edilmiştir. Corchorus Olitorius, 250 mg/kg, PCA 20mg/kg dozunda oral gavaj ile, 20 günlük deney süresince hergün verilmiştir. Deney süresi sonunda sağ testisler alınarak %10luk formaldehitte tespit edilmiştir.

Alınan kesitlere HE, PAS, Masson Trikrom boyaması, apoptotik hücre değerlendirmesi için TUNEL boyaması uygulanmıştır.

Bulgular: Kontrol, sadece PCA ve CO verilen gruplarda testis dokusu normal yapıda gözlenirken, STZ ile diyabet oluşturulup tedavi edilmeyen grupta seminifer tübüllerin bir kısmında dejenerasyon, vakuolizasyon, spermatogenetik hücre dizisinde ayrılmalar, lümeninde dökülmüş hücre toplulukları, veziküler cisim, intertisyel alanda sıvı birikimi, ödem tespit edildi. TUNEL (+) hücrelerin kontrol gruplarına göre artmış olduğu görüldü. PCA ve CO ile tedavi edilen gruplarda kan glukoz değerlerinin ve TUNEL (+) boyanan hücrelerin azaldığı tespit edildi.

Sonuçlar: PCA ve CO ile tedavi edilen diyabetik sıçanlarda, yüksek kan glukoz değerlerinin düşmesi, testislerdeki diyabet komplikasyonlarının önlenmesinde PCA ve CO'nun önemli bir etkisi olduğu saptanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Streptozotosin, Diabetes mellitus, Testis, Corchorus Olitorius, Protocatechuic asit.

Investigation of, Corchorus Olitorius effects on STZ Induced Diabetic Rats

Testis by Light Microscopy

Aim: The purpose of this study is to investigate the possible protective effects of antioxidants Protocatechuic acid and Corchorus Olitorius, which is known as Molehiya in Northern Cyprus with the STZ induced diabetic rat models testis by light microscopy.

Materials and Methods: In this study 42 Wistar Albino rats were used and divided into five groups as; Diabetes Mellitus (DM), Diabetes Mellitus +Corchorus Olitorius (DM+CO), Diabetes Mellitus + Protocatechuic acid (DM+PCA), Corchorus Olitorius (CO), Protocatechuic acid (PCA) and Control (C). Diabetic models created with 60 mg/kg ip. STZ solution in (0,1 molar citrate buffer pH=4,5). After 48 hours of the STZ injection, blood sample was taken from tail vein of rats and evaluated by kit. Corchorus Olitorius with 250 mg/kg dosage and PCA with 20 mg/kg dosage given the rats by oral gavage for 20 days. At the end of the experiment right sided testis of the rats were taken for investigation with %10 formaldehyde. Cross sections were painted by HE, Masson trichrome, PAS and TUNEL was applied for determination of cellular apoptosis.

Results: Control, only PCA and only CO treated groups testis tissues showed a normal tissue organization but STZ induced diabetic models and untreated group showed a degeneration in seminiferous tubule, the vacuolization, separations in spermatogenic cell series, outpouring of cell group in the lumen, vesicular body, liquid accumulation in the interstitial region and edema. More TUNEL (+) stained

cells determined in STZ group than the other groups. Blood glucose level and number of TUNEL(+) stained cells were decreased in PCA and CO treated groups.

Conclusion: Blood glucose level decreased in PCA and CO treated group, and it is showed PCA and CO decreased the complications of diabetes in testis

Key Words: Streptozotosin, Diyabetes mellitus, Testis, Corchorus Olitorius, Protocatechuic asit.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Diyabetes Mellitus (DM), dünyada ve ülkemizde görülme sıklığı giderek artan, insanların yaşam kalitesini büyük ölçüde etkileyen kronik bir hastalıktır. DM'da artmış glukoz düzeyi, karbonhidrat, yağ ve protein metabolizmalarında çok ciddi hasarlara neden olur, insan hayatını tehdit edebilecek ateroskleroz, hipertansiyon, diyabetik nöropati, diyabetik ayak, diyabetik retinopati, iskemik felç, miyokard infarktüsü, kadın ve erkek infertilitesi gibi patolojilere neden olur (Sefil.,2013; Cofiansu ve ark., 2009). Diyabetin neden olduğu olumsuz sonuçlarda oksidatif stresin önemli bir yeri vardır. Oksijenin belli bir kısmı Reaktif Oksijen Türlerine (ROS) dönüşmekte ve toksik etkiye yol açmaktadır. ROS ile aynı özelliğe sahip en bilinen reaktiflerden olan Reaktif Nitrojen Türlerindeki (RNT) oksidatif hasar oluşturabileceği bilinmektedir. Sağlıklı bir insan vücudunda ROS'un oksidatif stres özelliğinden kaynaklı olarak hücrelerin fonksiyon ve yapı bütünlüğü bozulmakta, hücre ölümüne neden olmaktadır. Antioksidanlar ise koruyucu etki göstererek aradaki denge korunmaktadır. Oksidatif strese karşı savaşılan enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan mekanizmalar bulunmaktadır. Enzimatik antioksidanlardan en

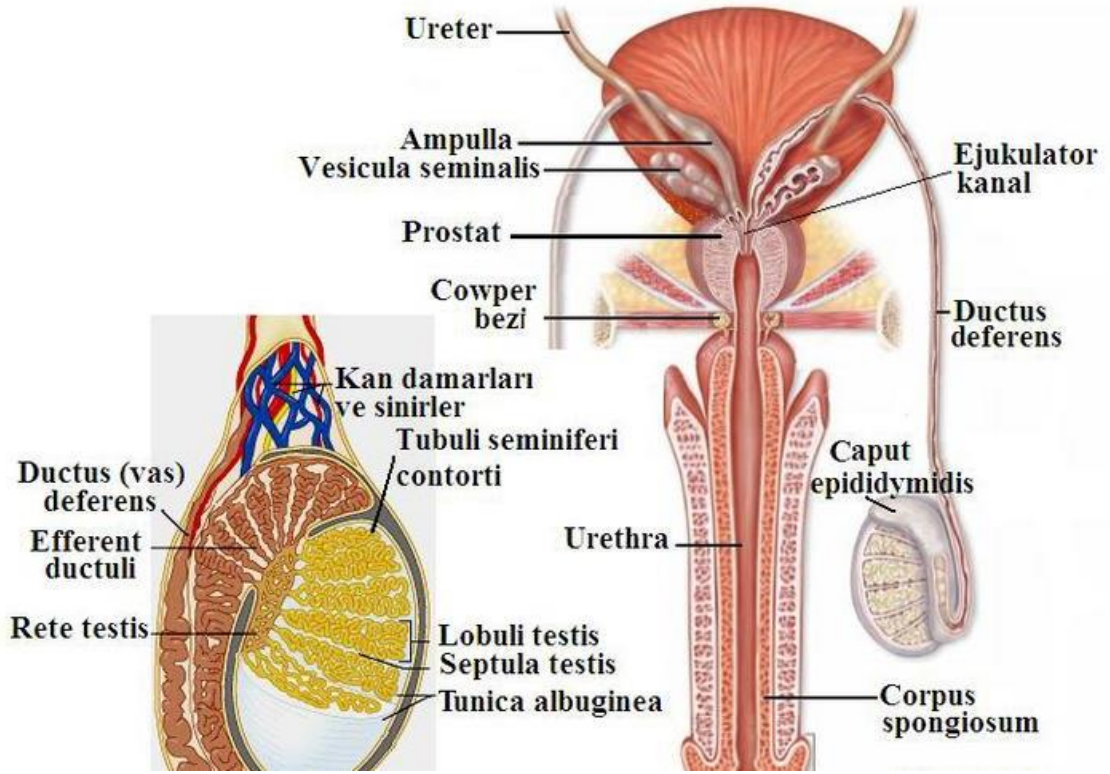
bilinenleri arasında süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSH-PX), katalaz (CAT), glutatyon redüktaz (GSH-RD) gelmektedir. Buna karşılık olarak A, C ve E vitaminleri, folik asit, B vitaminlerinden bazıları, mineraller ve glutatyon da nonenzimatik yolla savaşan antioksidanlara örnek olarak gösterilmektedir. ROS'un hücrelerde oluşturduğu zedelenmelere karşı ilk akla gelen tedavi yöntemi antioksidanlardır. Bu nedenle antioksidatif etkisi olabilecek maddelerin tedavi amaçlı çalışmalarda kullanılması ve olası tedavi yöntemlerini geliştirmek oldukça büyük önem taşımaktadır. Son yıllarda diyabetik hastalarda veya deneysel diyabet oluşturulmuş hayvan modellerinde yapılan çalışmalar, özellikle erkekte infertilitesinde DM'un ilk sıralarda olduğunu göstermiştir. Kanda fazla miktarda bulunan glukoz hiperglisemiye neden olmakta ve ROS üretimini de artırmaktadır. Artan ROS miktarı insülin direncini yükseltmekte ve doğrudan hücrelerin ve dolaylı olarak uzun sürede organ ve sistemlerin işleyişini bozmaktadır. Erkek üreme sisteminde meydana gelen işlevsel ve yapısal hasarların başında testosteron düzeyinde, testis ağırlığında, sperm sayısında ve hareketliliğinde azalma, spermatogonyumlarda vakuolizasyon, seminifer tübül duvarında kalınlaşması tespit edilmiştir (Hamamcioğlu, 2017; Eken, ve ark., 2013 ;Kakkar ve Bais, 2014). Ayrıca antioksidan özellikteki çeşitli yöresel bitkiler alternatif olarak diyabet tedavisinde deneysel olarak kullanılmış ve olumlu sonuçlar elde edilmiştir (Safaeian ve ark.,2016; Semaming ve ark.,2015; Yüksel ve ark.,2017; Sunve ark., 2016). Kıbrıs halkı tarafından Molehiya olarak bilinen ve çok tüketilen, literatürde Corchorus Olitorius (CO) olarak geçen bitkinin alternatif tedavide ve deneysel araştırmalarda kullanıldığı, koruyucu veya hastalık önleyici etkilerinin olduğu bildirilmiştir. Antioksidatif, antihepatotoksik, yağ peroksidasyonunu engelleyen, antibakteriyel,

antikonvulsiv, diüretik özellikleri ile bilinen CO, A vitamini, C vitamini, lif kaynağı, kalsiyum, çeşitli minareller ve demir gibi birçok madde bakımından oldukça zengindir (Chen ve ark.,2015; Zhang ve ark., 2015; Adedosu ve ark., 2015; Ademiluyi ve ark.,2015; Hamzah ve ark.,2014; Mibei ve ark.,2012; Airaodion ve ark., 2019; Vya ve ark.,2013). Bu çalışmada Streptozotosin (STZ) ile deneysel diyabet oluşturulmuş sıçan testis dokusunda meydana gelen yapısal değişikliklere Corchorus Olitorius (molehiya) etkilerinin, PCA ile karşılaştırılarak mikroskopik olarak incelenmesi amaçlanmaktadır. Yapılan kaynak taramalarında Corchorus Olitorius'un diyabetik testislerdeki etkileri konusunda çalışmalara rastlanılmamıştır. Çalışma sonucunda elde edilecek olumlu sonuçlar diyabete bağlı komplikasyonların tedavisinde yeni bir yaklaşımı getirecektir, diyabet hastalarında destekleyici olarak CO kullanımını yaygınlaştıracaktır. Ayrıca konu ile ilgili yapılacak çalışmalarda kaynak olarak kullanılabilir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Erkek Üreme Sistemi Anatomisi

Erkeklerde üreme sistemi bileşenleri karın boşluğu, pelvis ve perineum olmak üzere 3 ayrı bölgede yer alır. Ana bileşenleri şekil 2.1 de görüldüğü gibi testis, epididimis, duktus deferens, üretra ve penistir. Ayrıca bu ana bileşenlere ek olarak prostat, seminal ve cowper olmak üzere 3 tane yardımcı bez vardır.



Şekil 2.1. Erkek Üreme Sistemi anatomisinin bileşenleri (Moore ve ark., 2006)

2.1.1. Testis

Şekil 1’de görüldüğü gibi testisler bir çift olup, elips şeklinde ve funiculus spermaticus tarafından skrotum içerisinde oblik konumda yerleştirilmiş olarak bulunan erkek üreme hücrelerinin üretildiği yerdir. Her bir testisin ağırlığı yaklaşık olarak 10-14 gr arasındadır ve sağ testis soldakine oranla 1 cm daha yukardadır. İki yüzü facies medialis ve facies lateralis ile sarılıdır. Testisin üst kısmında küçük, yassılaştırmış yapı olan paramesonefrik kalıntısı olan appendixdir. Arka kısımlarında ise spermlerin olgunluk kazanıp, depolandığı yer olan epididimis bulunur. Geriye kalan üç yüzü ise visseral periton ile sarılıdır. Testisler, fascia transversalis ve periton arasında karın boşluğunda gelişmeye başlar ilerleyen süreçte doğum yaklaştığında kanalis inguinalis aracılığı ile skrotum içerisine yerleşir. Gelişim devam ettikçe kanalis

inguinalis fibröz bir yapı haline gelerek gubernaculum testisi oluşturur. Testisin arka kenarının lateral kısmını saran peritonun prosesus vaginalis adı verilen bir uzantısı gubernaculum testisi takip ederek scrotum içerisine iner. Scrotuma iniş esnasında karın bölgesindeki ön duvar tabakalarında beraberinde götürür. Kanalis inguinalis aracılı scrotuma iniş yaptıktan sonra, prosesus vaginalis kendi kendini kapatır. Bundan dolayı testisin anatomisinde prosesus vaginalis kalıntısı yerini korur. Bu kalıntıya tunica vaginalis testis adı verilir. Tunica vaginalis testis 2 yapraktan meydana gelir. Bunlar; önden ve iki yüzünden saran lamina visseralis ve arka kısmı ile lateral kısmından çevreleyen lamina parietalidir. Bu iki yaprak arasındaki boşluk seröz sıvı yönünden zengindir. Karın boşluğundan aşağıya inen testisler kendisini tunica vaginalisten itibaren dış taraftan saran, karın ön duvar tabakaları olan fascia spermatica interna, m.cremaster, fascia cremasterica ve fascia spermatica eksterna ile sarılıdır. Tunica vaginalis testisten daha iç bir konumda olan tunica albuginea ve tunica vasculosada testisi içten saran 2 katmandır. Tunica albuginea testisi içten kavrayan, esneme payı olmayan kalın fibröz bir yapıdır. Arka kenardan testis içerisine girdiği sırada mediastinum testis adı verilen bölümü oluşturur. Tunica vaginalisi içten saran bir diğer yapı olan tunica vasculosa ise damar yönünden zengin olup, lobuli testisleride içten sarıp, besleyen tabakadır. kısımdır (Drake ve ark., 2009; Sancak ve ark., 2002; Moore ve ark., 2006).

2.1.2.Epididimis

Spermiumların testisten sonraki duraklarıdır. Testisin arka kısmında üstten alta kadar boydan boya uzanan yapıdır. Duktuli efferentes testisin uç kısmından başlayan caput epididimis ve caput epididimisin kıvrımlarından türeyen yapılar olan corpus

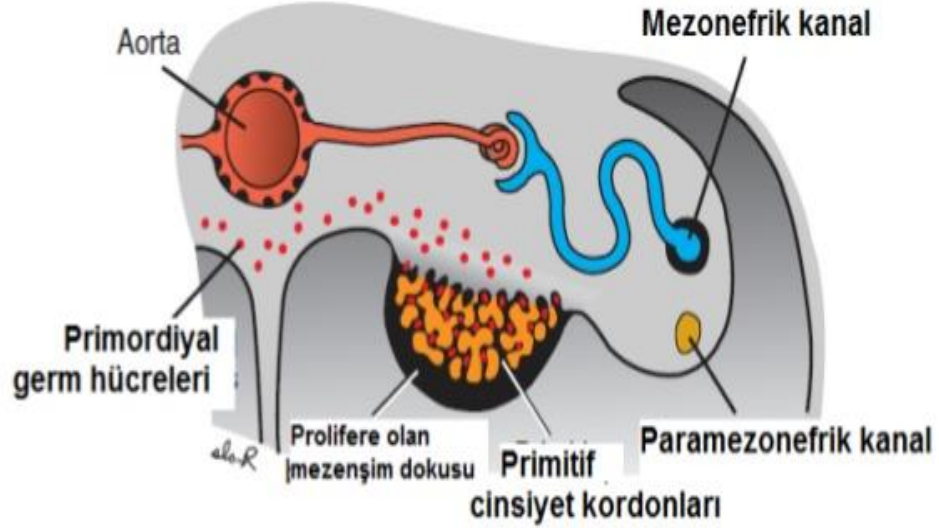
epididimis ve cauda epididimis olmak üzere epididimisin 3 kısmı vardır. kısımdır (Drake ve ark., 2009; Sancak ve ark., 2002)

2.1.3.Duktus Deferens

Uzun, kaslı bir yapıya sahip olup, spermiumları epididimisin kuyruk kısmından başlayarak ejakülasyon kanalına taşıyan kanaldır. Cauda epididimisten sonra gelen kısımdır (Moore ve ark., 2006).

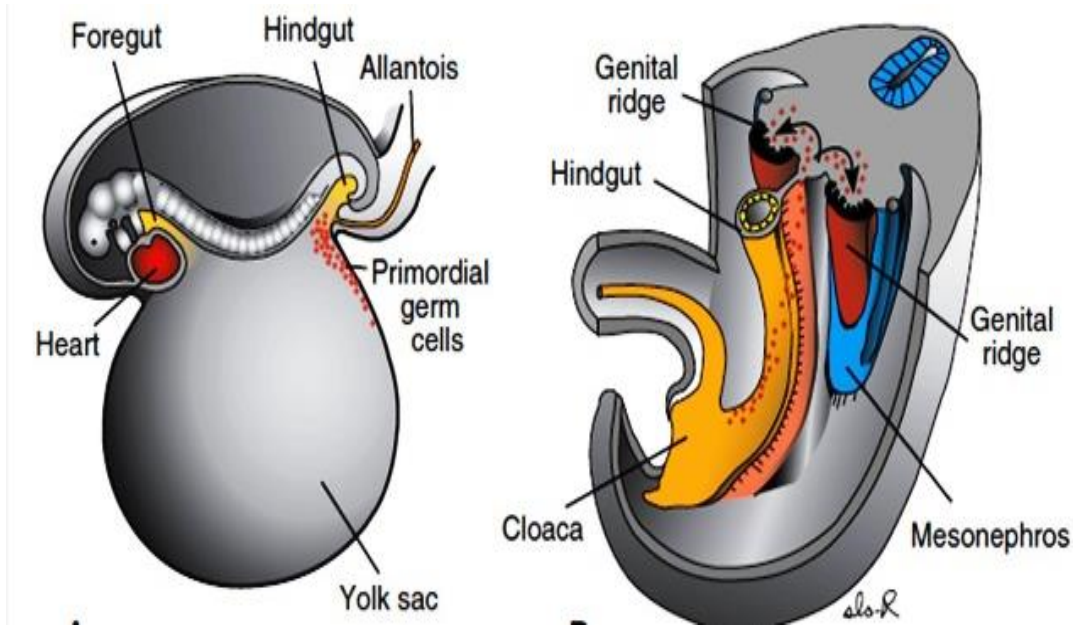
2.2. Erkek Üreme Sistemi Embriyolojisi

Her ne kadar embriyonun cinsiyeti döllenme sırasında sperm hücresinin taşıdığı olduğu kromozomla belirlenmiş olsada (X veya Y) embriyo gelişiminin 7. haftasına kadar genital gelişim farklanmamış gonad evresinde olduğundan embriyonun cinsiyeti tespit edilemez. Dişi ve erkek embriyo 7. haftaya kadar aynı morfolojik özellikleri gösterir (Şekil 2.2).



Şekil 2.2. Farklılaşmamış gonadların görüntüsü. (Sadler., 2017)

İlerde cinsiyet hücrelerini üretecek olan gonadlar yaklaşık 5. haftada farklılaşmaya başlar ve temel olarak 3 kaynaktan gelişirler. Bu kaynaklar embriyonik mezoderm, primordiyal germ hücreleri ve abdomenin arka duvarındaki mezotelyum tabakalarıdır. Gelişimin ilk aşamaları kalınlaşan mezotelyum mezonenefrozun orta kısmına doğru gelişir. Buradaki epitelin çoğalması ve alttaki embriyonik mezoderm dokunun artması ile çıkıntı şeklinde gonadal yükselti oluşur (gonadal ridge). Parmak benzeri epitel kordonlar gonadal kordonları oluşturur.



Şekil 2.3. Primordial cinsiyet hücrelerinin allantoise doğru göçü sırasında, gonadların görüntüsü (Sadler., 2017)

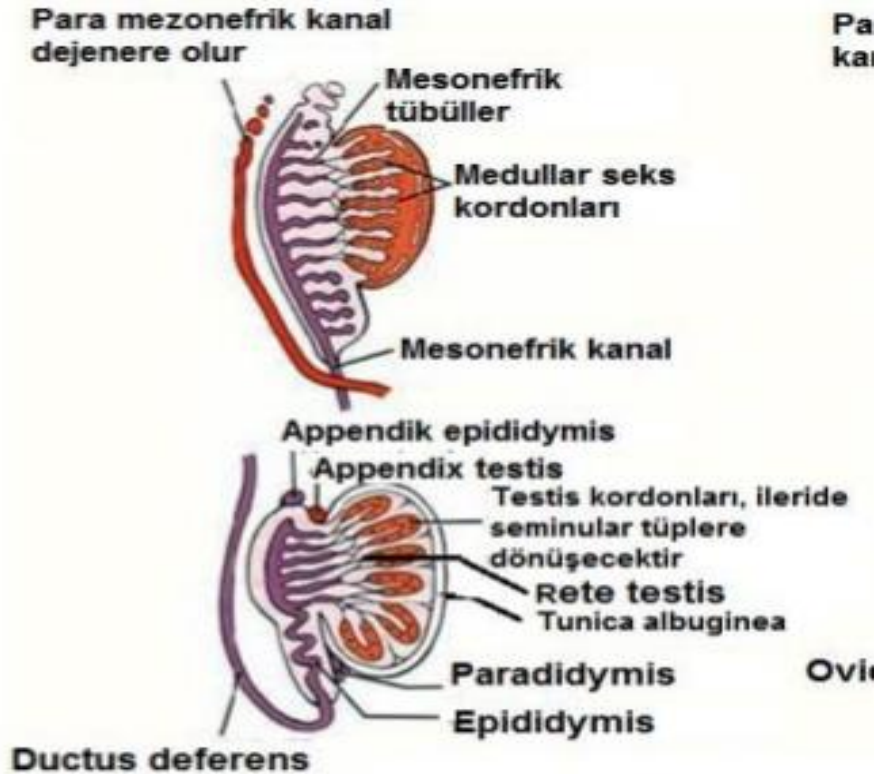
Farklılanmamış gonadlar ilk başta dış korteks ve iç medulla olarak şekillenir. XX cinsiyet kromozomuna sahip embriyoda korteks ovaryumu oluşturmak için farklılaşıp gelişecek ve medulla gerileyecektir. XY cinsiyet kromozomuna sahip embriyoda ise tam aksine, korteks gerileyip, medulla testisleri oluşturacaktır. Döllenmeden yaklaşık 24 gün sonra büyük ve yuvarlak cinsiyet hücreleri (primordial cinsiyet hücreleri) allantois boyunca gonadlara göç eder (Şekil 3). Altıncı haftada

primordiyal cinsiyet hücreleri, Stella, fragilis, ve BMP-4 genlerinin yardımıyla gonadol kordların yapısına katılırlar. Embriyoda erkek fenotipinin oluşması sperm hücresini Y kromozomu taşımasına ve bu Y kromozomunun kısa kolunun üzerindeki testis belirleyici faktör (TDF) bölgesinde Sex determining region on the Y chromosome (SRY) geninin eksprese olmasına bağlıdır. Bu etkileşimin sonucunda Sox 9 ve Fgf 9 genlerinin ekspresyonu ile gonadol kordonlar, seminifer kordonlara farklılaşır. Birincil cinsiyet farklılaşması testesteron, dihidrotestesteron ve Anti müllerian hormona (AMH) bağımlı olup embriyonal gelişimin 7. haftasında başlar. (Moore ve ark, 2015; Sadler, 2011)

2.2.1. Testislerin Gelişimi

TDF, seminiferous kordonların yoğunlaşarak, farklılaşmamış olan gonadların medulla kısmına doğru uzanmalarını ve orda birleşerek ağ yapısındaki rete testisi oluşturmalarını sağlarlar. Seminifer kordonlar kalın bir fibröz kapsül olan tunika albuginea ile kaplanır, bu testis gelişiminin önemli göstergelerinden biridir. Seminifer kordonlar seminifer tübüller ile tubuli rekti ve rete testisi oluştururlar. Seminifer tübülleri ayıran mezenşim dokudan Leydig hücreleri köken alır. İntrauterin 8. haftada mezonefrik kanalların erkek yönünde farklılaşması için ve de eksternal genitalin gelişmesi için Leydig hücreleri testesteron ve andostenedione üretir. Fetal testisler tarafından 8- 12. haftalar arasında yüksek miktarda üretilen testesteronla birlikte AMH ve glikoprotein üretimi de mevcuttur. Sertoli hücreleri tarafından üretilen AMH'nin esas görevi paramezonefrik kanalın farklılaşmasını baskılayarak ilerde dişi yönünde gelişimini engellemektir (Şekil 2.4). Seminifer tübüllerde çoğunlukla Sertoli hücreleri ve daha az sayıda spermagonyumlar yer alır, Sertoli hücrelerinin destekleyici, koruyucu, salgı yapma görevleri bulunmaktadır. İntertisyal hücrelerden

(Leydig hücreleri) salgılanan testosteron ve sertoli hücrelerinin ürettiği AMH sayesinde paramezonefrik kanal oluşumu inhibe edilir. Fetal gelişim sırasında, seminifer tübüllerin epiteli ile testisi saran dış yüzeydeki mezotelyum oluşturmak için yassı bir hal alır. Yaklaşık 10 ve 20 arası mezonefrik tübülle birlikte birlikte ilerleyen rete testis efferent kanallarını oluşturur. Ve bu kanallar, mezonefrik kanal ile birleşerek epididimisin kanalını oluştururlar. Bu mesonefrik kanalların proksimal kısmı ise testosteronun etkisiyle birlikte yoğun kıvrımlar oluşturarak epididimisi oluşturur. Geriye kalan mezonefrik tübüller efferent kanalları oluşturmak için değişikliğe uğrarlar ve bu kanallar epididimisin kanalına açılır. Epididimisin distal ucundaki mezonefrik kanal kalın ve yoğun bir şekilde düz kasla çevrilerek duktus deferens meydana getirir. (Moore ve ark, 2015; Sadler, 2011)



Şekil 2.4. Erkek yönünde farklılaşmış gonadların görüntüsü (Sadler., 2017)

2.3. Erkek Üreme Sistemi Fizyolojisi

2.3.1.Kan Testis Bariyeri

Primitif germ hücreleri, Sertoli hücreleri seminifer tübüller içinde yer almaktadır. Germ hücreleri hayatta kalabilmek için Sertoli hücreleri ile yakın temas halinde bulunmak zorundadırlar ve bundan dolayı komşu Sertoli hücreleri arasında sıkı bağlantılar vardır. Bu sıkı bağlantılar dokular arası moleküllerin veya bazal laminadaki elemanların lümenine ulaşmasını engeller. Başka bir deyişle, kan ile testis arasında bir bariyeri oluşturulur çünkü seminifer tübüllerin lümeni plazmaya göre daha az protein ve glukoz, daha fazla androjen, östrojen ve potasyum içermektedir. Lümen ve seminifer tübül arasındaki içeriklerin çok farklı olmasından dolayı hücrelerin korunması şarttır ve bundan dolayı kan testis bariyerinin varlığı büyük önem taşımaktadır. Plazma ve seminifer tübüllerdeki komplementlerin farklılığının yanı sıra bu bariyer germ hücrelerini kan yoluyla bulaşabilecek tüm zararlı etkenlerden, otoimmünitinin vereceği tepkiden korur ve lümenine doğru osmotik akımın oluşup korunması sağlar.

2.3.2.Spermatogenesisiz

En ilkel erkek üreme hücresi olan spermatogonyumlar seminifer tübüllerin bazal laminası üzerinde yer alır, kök hücre özelliğindedir. Spermatogonyumlar birçok mitoz bölünmeden sonra primer spermatosit oluşturarak farklılanmaya devam ederler. Oluşan primer spermatositler mayoz bölünme geçirerek kromozom sayılarını yarıya düşürür ve önce sekonder spermatosite ardından ise spermatide farklılaşır. İnsanda spermatogenez işlemi sırasında bir spermatogonyumdan yaklaşık olarak 512 spermatid oluşmakta ve bu farklılaşma süreci yaklaşık olarak 74 gün sürmektedir.

Oluşan spermlerin çekirdeği DNA yönünden çok zengin olup genetik materyali taşır. Spermin baş kısmı yumurtayı döllemeyi kolaylaştıracak olan lizozomal enzimleri içeren akrozom başlık ile sarılıdır. Sperm kuyruğunun orta parçasında hareket için gerekli olan enerjiyi sağlayan mitokondriyonlar bulunur. Olgunlaşan spermiyumlar Sertoli hücrelerinin salgıları ile birlikte ayrılarak lümende özgür hale gelir. Spermatogonyumların gelişimi için seminifer tübüllerin içerisinde testesteron hormonu dolaşımdakine göre daha fazla olmalıdır. Sertoli hücrelerinden salgılanan Androjen Bağlayıcı Proteinler testesteronu tübüller içine taşır. Follikül Stimüle eden Hormon (FSH) Sertoli hücreleri üzerinde spermatidlerin olgunlaşma aşamasını kolaylaştıracak etkisi ve androjen bağlayıcı proteinlerin üretimini artırıcı etkisi vardır. Testislerden uzanan rete testisteki sıvının içerisinde yoğun miktarda östrojen bulunması ve rete testisin duvarındaki birçok östrojen resöptörlerinden dolayı buradaki sıvı geri emilerek ortamda daha yoğun spermiyum kalması sağlanarak döllemenin gerçekleşme şansını artırılır.

2.3.3. Testisten Sonra Spermiyumların Gelişimi

Testisi terk eden, hareketsiz spermiyumlar tam anlamıyla olgun hale gelebilmek ve hareketlerini kazanabilmek için epididimise göç ederler. Spermiyumların hareket kazanması kuyruk kısımlarında yer alan CatSper adlı protein ailesinden bir grubun aktif hale gelmesi ile gerçekleşir. Bu protein grubu alkaline duyarlı Ca kanallarından oluştuğundan dolayı asidik bir pH'a sahip olan vajinaya ulaştınca daha çok aktiflik kazanır. Ayrıca spermatozoanın ürettiği olfaktor reseptörlerle, ovaryumun eksprese ettiği odorant benzeri moleküller kemotaksis yoluyla spermatozoaların ovaryuma doğru hareketini kolaylaştırır. Gerçekleşen ejakulasyon ile spermiyumlar önce uterusu ardından uterin tube ulaşır. Uterusta kapasitasyon yeteneğini kazanır.

Kapasitasyon reaksiyonu geçiren spermiyum geçmişe göre hareket yeteneğini daha çok artırmış ve akrozom reaksiyonu için bir önhazırlık yapmış olur. Istmustan ampullaya gelen spermiyum burada yumurtayla karşılaşır ve döllenme meydana gelir (Barret ve ark., 2019).

2.4. Erkek Üreme Sistemi Histolojisi

Erkek üreme sistemi (EÜS) testisler, genital boşaltım kanalları, yardımcı üreme bezleri ve penisten oluşan kompleks bir sistemdir. Yardımcı üreme bezleri seminal vezikül, prostat ve bulboüretal bezler olmak üzere 3 kısıma ayrılır. Rete testis, tubuli rekti, duktus epididimis, duktus ejakulatoryus, duktus deferens ve duktuli efferentesde genital kanal sisteminin kompartmanlarını oluşturmaktadır (Wojciech Pawlina ve Michael H. Ross 2017).

2.4.1. Testisler

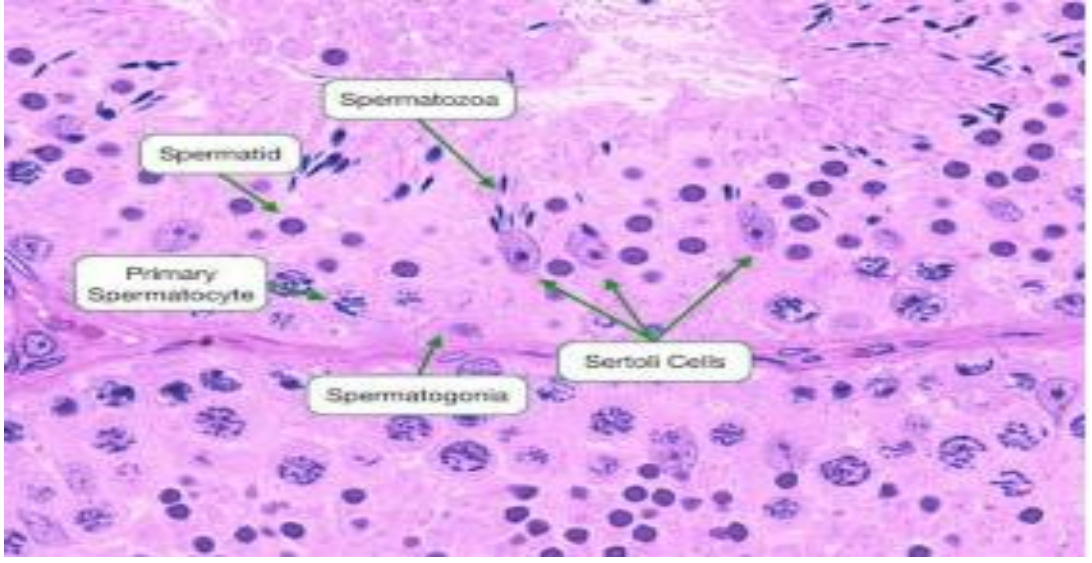
Testisler karın arka duvarında gelişerek skrotal ligamentler aracılığı ile vücut boşluğu dışında yer alan skrotum içerisine yerleşir, ekzokrin ve endokrin salgılama yapar. Embriyoda cinsiyet farklılaşmasını, bireyde ise seksüel olgunlaşmayı sağlamakla birlikte üreme fonksiyonlarının doğru olarak yerine getirilmesini hedefler. Skrotumla sarılı olan testisler yapıları birbirlerinden farklılık gösteren 3 tabaka ile dıştan içe doğru sarılmaktadır. Bunlar sırasıyla testislerle birlikte karın boşluğundan skrotuma kadar inen ve mezotel tabaka ile döşenmiş olan dış tabaka

tunika vajinalis, testisi kalın bir fibroelastik bağ dokusu ile çevreleyen en belirgin ve en yoğun tabaka olan tunika albuginea, içte ise damardan zengin, gevşek bir bağ dokusu özelliği gösteren tunika vasküloza bulunur. Testise kan ve lenf damarları, kanalların girişi mediastinum testis bölgesindedir ve tunika albugineanın testisin arka yüzünde yoğunlaşmasıyla oluşur (Wojciech Pawlina ve Michael H. Ross 2017).

2.4.2. Seminifer Tübüller

Dıştan Tunika albuginea ile sıkıca çevrili olan testiste sayıları 250-300 arası değişen lobüller vardır. Seminifer tübül ve Leydig Hücrelerinden oluşan bir stomaya sahip bu lobüller kapsülden testise doğru gelen bağ dokusu sayesinde oluşmuşlardır. Testis lobülleri kan damarları, interstiyel hücreler ve sınırlardan zengin olup içerdikleri seminifer tübül sayısı 1- 4 arası değişmektedir. Dolayısı ile her bir testis 250-1000 arası seminifer tübül bulunur. Çok katlı, kompleks bir epitel ile döşenmiş olan seminifer tübüller Sertoli ve Spermatogenetik hücreler olmak üzere 2 temel hücre grubu içermektedir (Şekil 2.5). Seminifer epitelinin dışında tübüllerde kasılmayı sağlayan miyoid hücreler ve kollajen liflerin yer aldığı bağ dokusu olan tunika propriya yer alır. Kasılmanın sağlanmasıyla sperm üretimi ve salgıların kanallara ilerlemesi sağlanır. Yaşlılıkla birlikte seminifer tübüllerin boylarının kısalması veya tunika propriyanın kalınlaşması sonucunda kasılma olumsuz yönde etkilenir, taşınma azalır ve infertilite ortaya çıkar. Seminifer tübüllerin arasında, sinir, kan ve lenf damarlarından zengin gevşek bağ dokusu olan interstiyel doku bulunur. İnterstiyel bağ dokusunun yapısında fibroblast, mast hücreleri ve makrofajlar bulunur. Leydig

hücreleri tek tek veya toplu olarak kapillerlerin çevresinde yer alırlar. Leydig hücrelerinin sitoplazmalarında çok sayıda lipid damlacıkları bulundurmaları, poligonal şekilli, büyük nükleuslu oluşları, asidofil sitoplazmaya sahip olmalarıyla tanınırlar. Tüm steroid salgı yapan hücreler gibi Leydig hücreleride granülsüz (aER) bakımından zengin olup, bu özelliğinden dolayı eozinofilik olarak boyanırlar (A Anthony L.Mescher, 2018). yırca işlevselliğini tam olarak ne olduğu bilinmeyen çubuk şekilli, lipofuksin pigmenti kristaller olan Reinke kristalleri ile çok fazla sayıda mitokondriyonda Leydig hücrelerin sitoplazmalarında yer alır. Bu hücrelerin embriyonik yaşamdan itibaren başlayarak yaşam boyu devam eden aktifleşme ve pasif hale geçme durumu söz konusudur. Erkek fetüsün cinsel olgunlaşmasının normal gelişebilmesi ve testosteron ile birlikte diğer steroidlerinin de üretilebilmesi için Leydig hücreleri erken farklılaşma sürecinden başlayarak fetal sürecin 5.ayına kadar aktif halde seyreder. Fetal sürecin yaklaşık olarak 5.ayında inaktif hale geçen Leydig Hücreleri ergenlikte gonadotropik uyarıyla birlikte ikincil cinsiyet karakterlerinin, aksesuar cinsiyet bezleri ile genital boşaltım kanallarının sağlıklı gelişebilmesi için aktif hale gelerek testosteron salgılanmasını başlatır. Testosteron erkek üreme sistemine ait tüm fonksiyonların hayat boyu sağlıklı biçimde işlevselliğinin sürdürülebilirliği açısından son derece önemlidir (Eşrefoğlu, 2016 ; Ross ve ark., 2017)



Şekil 2.5. Seminifer tübüllerin yapısı ve içerdiği hücreler. (Wojciech Pawlina ve Michael H. Ross 2017).

2.4.3 Spermatogenetik Hücreler

Spermatogenetik hücreler, testisin erken gelişim evresindeki primordiyal germ hücrelerinden gelişerek, kontrollü ve ard arda farklılaşarak olgun sperme dönüşen hücrelerdir. Sürekli çoğalma ve farklılaşma halinde olan spermatogonyumdan olgun sperme farklılaşmaya kadar sertoli hücreleri ile etkileşim halinde kalarak, seminifer tübüllerin farklı bölgelerinde, farklı yapılarda gözlenerek 3 ayrı fazda incelenir. Sertoli hücrelerinin, spermatogenetik hücreleri saran lateral ve apikal uzantılarının olmasından dolayı seminifer tübüller arasında gerçekleşen bu farklılaşma safhaları çok net ayırt edilememektedir.(Anthony L.Mescher 2018; Mukaddes Eşrefoğlu, 2016)

2.4.4. Sertoli Hücreleri:

Seminifer epitelinin sahip olduğu 2 önemli hücre grubundan biri olan Sertoli hücreleri, spermatogenetik hücrelere karşı koruyucu, besleyici ve aynı zamanda destekleyici özellikleriyle tanınmaktadırlar. Ayrıca, farklılaşım gelişme sürecini sağlıklı olarak tamamlayamayan spermatogenetik hücreleri de fagosite ederek ortadan kaldırır. Spermatogenetik hücrelerin aksine bölünme özellikleri olmayıp, lokalizasyon olarak bazal membranın üzerinde üçgen veya oval yapılı ökromatik nükleusları ile diğer hücrelerden ayırt edilebilir niteliktedirler. İçerik bakımından çok zengin organel çeşiti olan Sertoli hücrelerinin bazal sitoplazmalarında Charcot-Böttcher olarak adlandırılan, işlevsel olarak ne işe yaradığı tam anlaşılamayan inklüzyon cisimcikleri izlenir. Sertoli hücreleri ışık mikroskopunda soluk, sınırları tam olarak anlaşılamayan, belli belirsiz bir yapıda görülür. Spermatogenetik hücreler spermatogonyum aşamasından spermatid aşamasına varıncaya kadar sertoli hücrelerinin birçok farklı konumunda yer alırlar ve buldukları konum spermatogenetik hücrelerin farklılaşımının hangi aşamada olduğu hakkında bilgi verir. Sertoli- Sertoli, Sertoli ile bazal lamina ve Sertoli hücreleri ile spermatogenetik hücreler arası birçok bağlantı kompleksi yer almaktadır. Bu bağlantı kompleksleri arasında; bazal lamina ile oluşturulan hemidesmozom ve Sertoli hücreleri arasındaki gap junction ile zona okludens yer alır. Bunlara ek olarak seminifer tübüllerde üretilmekte olan ve farklı immünolojik yapıdaki spermatogenetik hücreleri kan dolaşımından ayırıp onların antijen olarak algılanmaması ve dolayısı ile immün reaksiyon başlamaması için sertoli hücreleri tarafından bariyer oluşturulmuştur. Bu bariyer kan testis bariyeri olarak adlandırılmaktadır. Salgı yapma özelliği

bakımından Sertoli hücreleri erkek üreme sisteminin gelişimi açısından çok önemli olan salgılama yapmaktadırlar. Bunlardan androjen bağlayıcı protein (ABP), AMH, inhibin, aktivin, transferrin ve plazminojen aktivatördür. ABP spermatogenetik hücrelerin gelişip, farklılaşmasında çok önemli bir rolü olan testosteronun bağlanması ve seminifer tübül içine alınmasında rol oynar (Anthony L.Mescher, 2018).

2.4.5 Spermatogenez

Spermatogonyum çeşitli aşamalardan geçerek olgun sperm oluncaya kadar farklılaşmasına spermatogenez denir. Gonadotropin miktarının artmasıyla birlikte pubertede başlayıp hayat boyu devam eden bu süreç 3 ayrı evrede incelenmektedir.

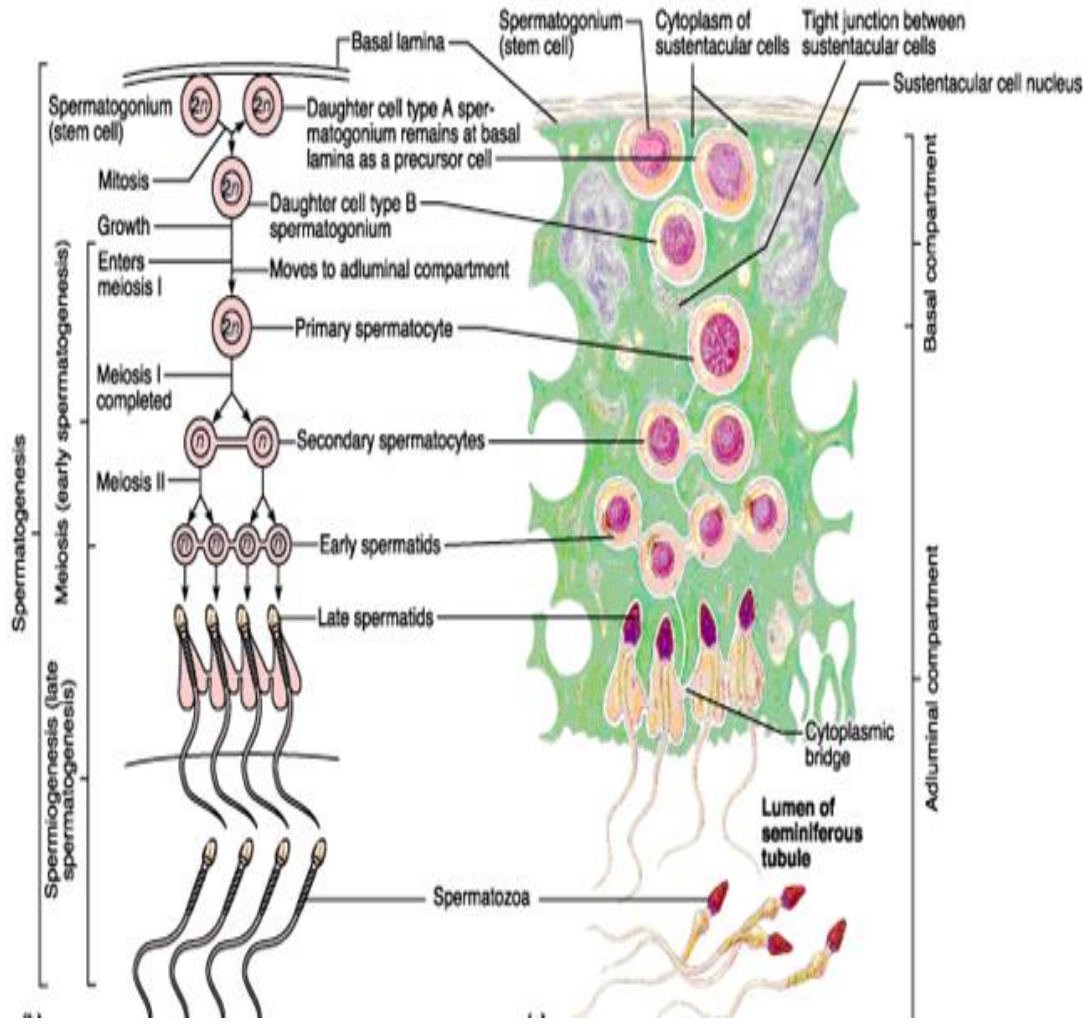
Bu evreler;

1. Spermatogonyal Evre
2. Spermatozoid Evresi
3. Spermatozoid Evresi

Spermatogonyal Evre: Bu evrede kök hücre özelliği gösteren spermatogonyumlar sürekli mitoz bölünme geçirirler. Spermatogonyumlar H&E ile boyandıkları zaman çekirdekleri 3 farklı fazda tanımlanmaktadır. Bunlardan Tip A koyu olan spermatogonyumlar (Ad) seminifer epitelini oluşturan kök hücre olarak bilinmekte ve bazofilik, oval çekirdek ve ince granüllü kromatine sahiptir. Bu tip spermatogonyumlar belirli aşamalardan sonra ya yine Tip A koyu, ya da Tip A açık olmak üzere 2 tip spermatogonyum oluşturur. Tip A açık spermatogonyumlar (Ap) yapı olarak Ad ile aynı özellikte olup açık renkte boyanmalarından dolayı onlardan ayrılırlar ve birçok mitoz bölünmeyle çoğaldıktan sonra Tip B spermatogonyuma

farklılaşırlar. Nükleuslarının etrafında gruplar halinde yoğun kromatin içeren Tip B spermatogonyumların görünmesi spermatogonyal safhanın son aşaması olarak kabul edilir.

Spermatosit Evresi: Tip B spermatogonyumların mitoz bölünme geçirmesiyle primer spermatositler oluşur. Oluşan bu primer spermatositler DNA'larını replike edip $2n$ kromozoma ve $4d$ DNA'ya ulaştıktan sonra mayoz bölünmeye hazırlanırlar. Mayoz I geçirip kromozom sayılarını ve DNA miktarlarını yarı yarıya düşüren bu spermatositlere sekonder spermatosit denir. İnsanlarda; primer spermatositlerin geçirmekte oldukları mayoz bölünmenin profaz fazı yaklaşık olarak 22 gün devam etmekte olup, kromatin ipliklerinin kısalıp, daralmasıyla oluşan 44 otozom ve 2 cinsiyet kromozolarının (X,Y) oluşması ile tanınabilir. Homolog kromozolar arası meydana gelen crossing over olarak tanımlanan parça değişim süreci bu safhada yer alır, her bir spermatositten türeyecek olan 4 adet spermatidin genetik olarak birbirlerinden farklı olma sebebidir. Ayrıca, anafaz evresinde homolog kromozomların karşılıklı kutuplara rastgele ayrılışlarında spermatidler arası genetik çeşitliliğe katkı sağlamaktadır (Wojciech Pawlina ve Michael H. Ross 2017). (Şekil 2.6).



Şekil 2.6. Spermatogenez işlemi. (Wojciech Pawlina ve Michael H. Ross 2017).

Spermatid Evresi:

Diploid DNA miktarı ve toplamda 22 otozomal ve 1 cinsiyet kromozomu olmak üzere 23 kromozomu olan sekonder spermatositlerin mayoz bölünme geçirmesi sonucunda haploid spermatidler oluşturma safhasıdır. Sertoli hücreleri ile bağlantılı halde olan spermatidlerin sperme doğru farklılaşabilmeleri için spermiyogenez olarak adlandırılan 4 aşamalı morfolojik değişim sürecini geçirerek yeni özellikler

kazanmaları gerekmektedir. Bu değişim aşamaları golgi fazı, kep fazı, akrozom ve olgunlaşma fazı olarak tanımlanmaktadır (Şekil 2.4).

I. Golgi Fazı:

Bu faz adındanda anlaşılacağı gibi birçok golgi kompleksi içerdiği için PAS ile boyandığında ayırtedilebilir özelliği vardır. Glikoproteinden zengin PAS + granüller, akrozomal veziküller ile kombine olarak farklılaşmakta olan spermin ön kutbunu temsil eder. Arka cepheye doğru giden sentriyoller ise ilerde spermin kuyruğunu oluşturacak olan mikrotübüllerin oluşumuna izin verir.

II. Kep Fazı:

Kep fazında spermin ön cephesini belirleyecek olan akrozomal vezikül genişleyerek nükleusu çevreleyecek şekilde akrozomal kepi oluşturur. Nüklear içerik yoğunlaşır ve nüklear kılıf kalınlaşarak porlarını ortadan kaldırır.

III. Akrozom Fazı:

Bu fazda morfolojisi iyice değişen spermatidin baş kısmı Sertoli hücreleri arasından bazal laminaya, flagellası ise seminifer tübüllerin lümenine doğru ilerler. Nükleusu saran akrozomal vezikülün plazma membranının ön cephesine doğru yönelmesiyle birlikte sitoplazmanın posteriyor kısmında meydana gelen değişikliklere ek olarak, mikrotübüllerde posteriyor kısımlerleyerek manşeti oluşturur. Flagellumun oluşumuna golgi fazında başlayan sentriyoller bu fazda posteriyor kısma giderek nükleus ile flagellayı birleştirecek köprü niteliğinde olan bağlantı parçasını oluşturur. Nükleusa tutunan sentriyollerden meydana gelen 9 mikrotübülün kuyruğun içine

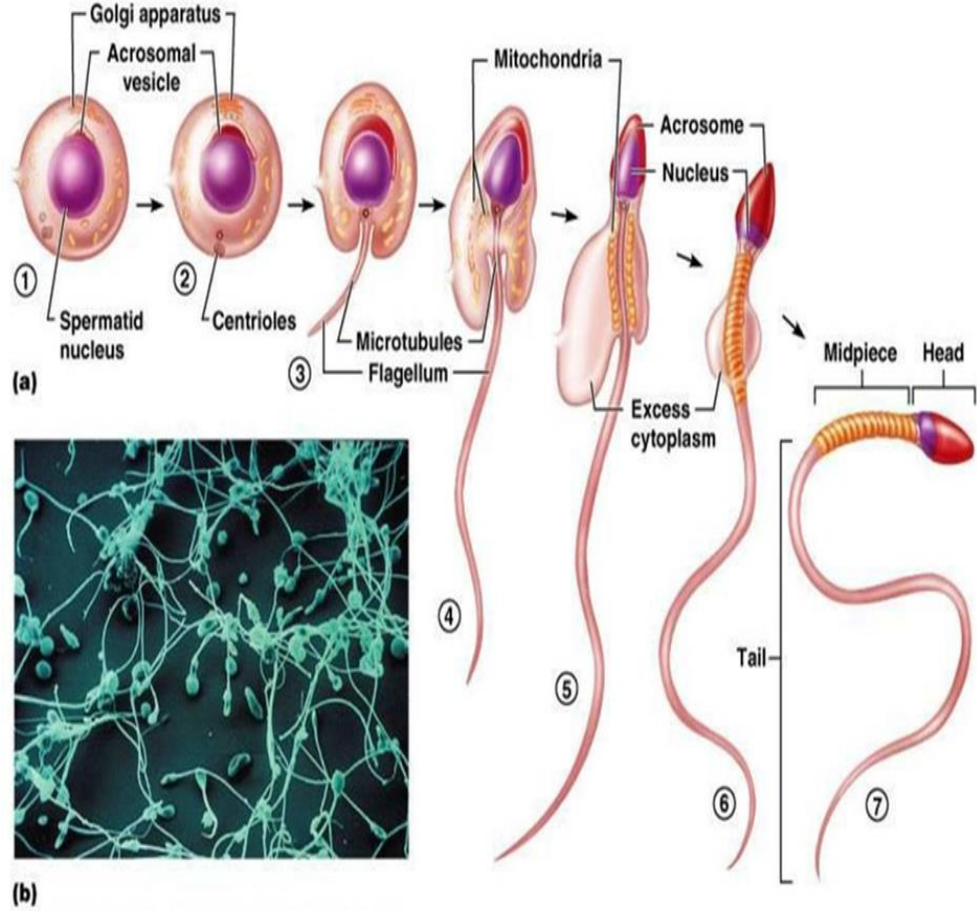
girmesi ile birlikte, gelişmekte olan flagellumu çevrelemeyi amaçlayan manşetin kaybolması ile mitokondriyonlar boyun bölgesinin arka kısmında fibrillerin çevresinde yoğunlaşarak sıkı bir sarmal oluşturur. Bu sarmal sperm kuyruğunun orta parçasını meydana getirir. Orta parçanın devamından başlayıp, neredeyse flagellumun ucuna kadar devam eden fibröz kılıf,9 adet longitudinal fiberden oluşan esas parçayı sarar.

IV. Olgunlaşma Fazı:

Bu faz adından da anlaşılacağı gibi spermatidin morfolojik ve fizyolojik olarak değişiklikler geçirerek olgun hal almasından dolayı spermium olarak adlandırılacağı safhadır. Bu aşamada meydana gelen değişiklikler arasında spermatid ile Sertoli hücreleri arasında kalan bağlantı kompleksleri ve flagellayı çevreleyen sitoplazma fazlalıklarının Sertoli hücreleri tarafından fagosite edilmesi yer alır. Faz sonunda spermatidler birbirlerinden bağımsız hale gelerek, Sertoli hücrelerinden ayrılırlar (şekil 2.7).

Olgunlaşma fazı sonucunda Sertoli hücrelerinden ayrılarak seminifer tübüllerin lümenine doğru ilerleyen spermatidler, spermiasyon diye adlandırılan bir aşamadan geçerek Sertoli hücreleri ile olan tüm bağlantılarından bağımsız hale gelirler. Bağımsız hal alan spermatit böylece lümeden ayrılırlar. Spermatidlerin lümeden ayrılması sırasında ortamda miktarca artış gösteren integrin ilişkili kinazlar, bu salıverilme sürecinde çok büyük bir rolü olduğu yönünde yorumlanır. Bazı olumsuz çevresel veya hormonal faktörler sonucu spermiasyon kalitesi azalmakta ve spermatidler Sertoli hücreleri tarafından hapsedilerek salıverilmeleri engellenmektedir. Bu da erkekte infertilite sebeblerinden bir tanesidir(Wojciech

Pawlina ve Michael H. Ross 2017; Victor P.Eroschenko, 2008; Mukaddes Eşrefoğlu 2016)

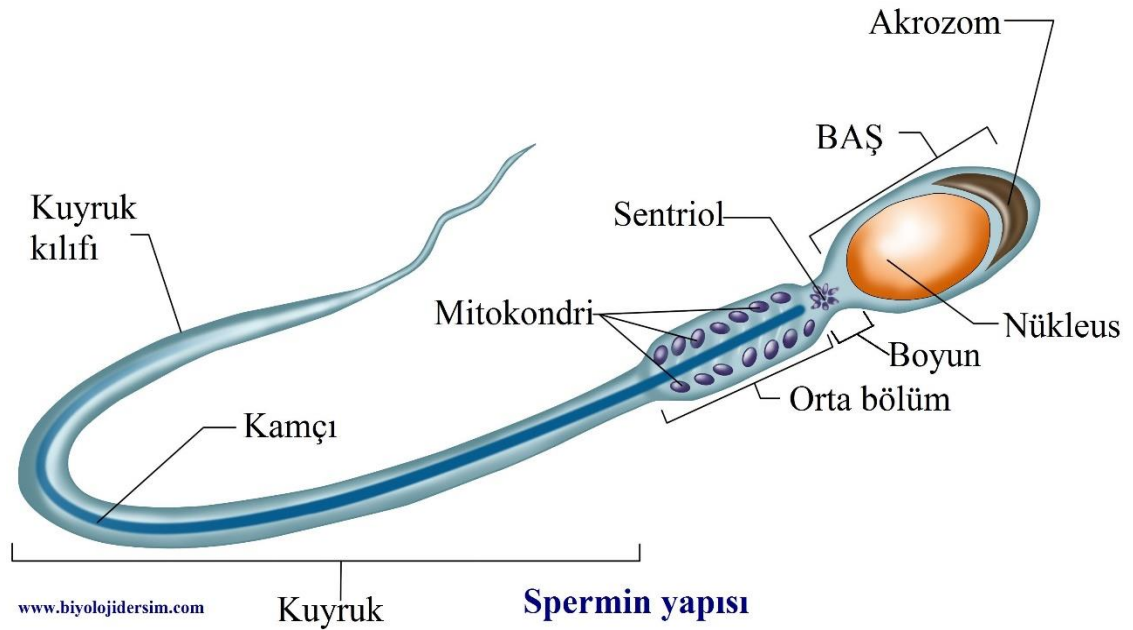


Şekil 2.7. Spermatid oluşum aşamaları (Ross, 2017).

2.4.6. Matür Spermin Yapısı

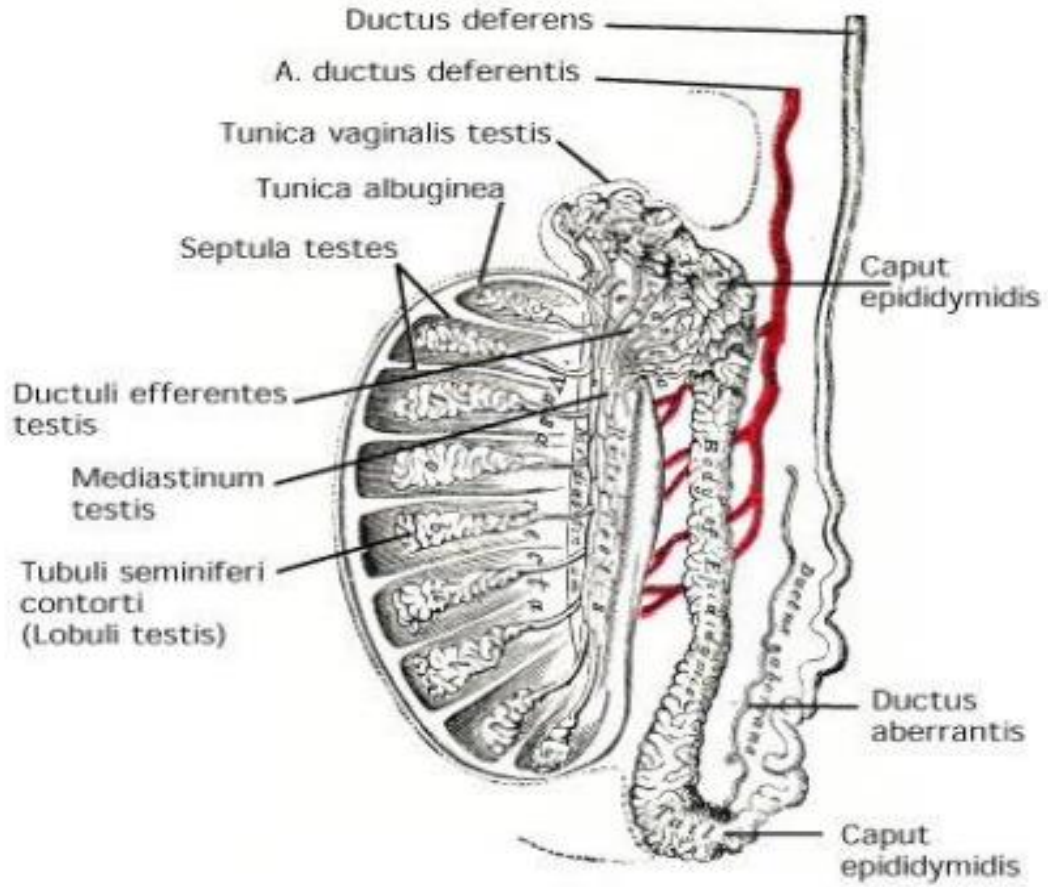
Olgun insan spermi, spermiyasyon işleminin tamamlanmasıyla oluşan 60 μm uzunluğunda bir hücredir (Şekil 2.8). Sperm başı, sivri, yassılaştırmış, 4,5 μm

uzunluğunda,1 µm kalınlığında ve 3 µm genişliğindedir. Spermin baş kısmında yer alan nükleusun, yarısından fazlası akrozomal başlık ile sarılıdır. Akrozomal başlıkta hyaluronidaz, asit fosfataz, nörominidaz gibi tripsin türevi yapılar bulunur, kadın üreme sisteminde zona pellusidanın kolaylıkla aşılması sağlanır. Akrozom reaksiyonu diye adlandırılan bu sürecin amacı; spermin yumurtayı aşıp geçmesini sağlayarak, fertilizasyon işleminin gerçekleşmesi ve fertilizasyondan sonra yumurtanın içerisine başka bir sperm girişinin engellenmesidir (Victor P.Eroschenko, 2008; Mukaddes Eşrefoğlu 2016).



Şekil 2.8. Spermin yapısı (Ross, 2017).

2.4.7. Erkek Boşaltım Kanal Sistemi



Şekil 2.9. Erkek boşaltım kanal sistemi (Wojciech Pawlina ve Michael H. Ross 2017)

Seminifer tübüllerin uç kısımlarında Sertoli hücreleri ile kaplı olan tubuli rektiler tek katlı kübik veya alçak prizmatik epitel ile kaplı olan rete testise açılır. Rete testisin epitelinde çok sayıda mikrovillus içerir. Rete testisten çıkan duktuli efferentesler epididimisin baş kısmını oluşturur. Duktuli efferentes, rete testis ile duktus epididimis arasındaki köprü konumundaki kanaldır. Mezonefrik kanalın arka yüzü ise düz kas ile temas haline geçerek duktus deferens meydana getirir. Duktuli efferentes yalnızca çok katlı prizmatik epitele sahip olan bir kanaldır. Bu kanal epididimisin baş kısmında çok katlı bir halde bulunur. Prizmatik hücreler incelendiği

zaman tırtıklı bir görünüm verir bunun sebebi uzun boylu prizmatik hücrelerin silyum, kısa boylu olanların ise bol miktarda mikrovillüs içermeleridir. Bu kanalların apikal bölümünde fazla sayıda lizozom ve pinositotik cisimlerin bulunması kanalın endositotik fonksiyonunun bir göstergesidir. Seminifer tübüllerde üretilen birçok salgının geri absorbe edildiği yer olan duktuli efferentesin çeperi düz kas hücreleri ile birlikte aralarında dağınık halde bulunan elastik fiberlerle çevrelenmiştir. Bu yapısal özelliklerinin duktuli efferentesin işlevselliğine uygun olarak spermlerin taşınmasında önemli rol oynadığı bilinmektedir (Şekil 2.9).

Epididimis testisin ön ve arka kısmında bulunan hilal şekilli, yaklaşık olarak 7.5 cm uzunluğunda, baş, gövde ve kuyruk olmak üzere 3 bölümden meydana gelen bezdir. Bol miktarda düz kas, kan damarı ve bağ dokusunu yapısında içermektedir. Duktuli efferentes epididimisin baş bölgesini, duktus epididimis ise kıvrımlarıyla birlikte epididimisin orta ve son bölgesini kapsamaktadır. Testisten epididimise spermlerin taşındığı ilk yer olan duktus epididimiste androjenlerin etkisiyle spermler hareket ve döllenme yeteneği kazanarak olgun hale gelir. Daha sonra sperm başında meydana gelen bir değişikliklerle dekapasitasyon gerçekleşerek spermin döllenme yeteneği, kadın üreme sisteminde yüzey ilişkili dekapasitasyon faktörünün ortamdan ayrılmasına kadar geçen süreye değin durdurulur. Yani spermler fiili olarak döllenme yeteneklerini kadın üreme sisteminde kazanırlar. Yapısal özellikleri bakımından duktus epididimis iki tip hücreye sahip olup, yalancı çok katlı epitele sahiptir. Burada bulunan iki tip hücreden biri olan esas hücreler stereosilyumların varlığı ile karakterize olup, fonksiyonları; gelişimini sağlıklı tamamlayamamış spermleri ortadan kaldırmak, duktuli efferenteste geri emilemeyen sıvının çoğunu epididimisin proksimal ucunda geri emmektir. Ayrıca gliserefosfokalin, siyalik asit salgılayarak

spermlerin olgunlaşmasına katkı sağlarlar. Bazal hücreler bazal lamina üzerinde bulunurlar, küçük, yuvarlak yapı gösterirler ve bu kanalın epitel örtüsünün kök hücresi olarak da tanımlanırlar. Ayrıca bu epitel örtüsünün içinde maksimum seviyede halo hücreleri olarak da isimlendirilen gezgin lenfositlerde yer almaktadır. Epididimisin düz kas yapısı işlevsellikleri ile paraleldir. Başın tamamında, gövdenin ise büyük bir kısmında oldukça ince düz kasa sahip olan epididimisin görevi peristaltik olarak kasılıp gevşeyerek spermin transportunu sağlamaktır. Spermlerin depolanma yeri olan epididimisin kuyruk kısmında ise düz kas yapısı içten ve dıştan sarılarak 3 katlı bir hal alır ve cinsel ilişki sırasında oluşan nöral uyarılar sonucu üç katlı düz kas tabakası aynı anda kasılarak ejakülasyonu gerçekleştirir. Böylelikle spermler duktus deferense iletilir.

Epididimiste çekirdek histonları protominler ile yer değiştirir, bu olay sonucunda sperm çekirdeği oldukça koyu (heterokromatik) gözlenir. Bu değişimin diğer bir amacı da sperm çekirdeğindeki genetik materyalin korunmasıdır. Sperm oosit içine girdiğinde protominler yeniden histonlar ile yer değiştirir (Wojciech Pawlina, Michael H. Ross 2017; Victor P.Eroschenko, 2008; Anthony L.Mescher, 2018).

2.5. Diyabetes Mellitus

Besinler yolu ile vücuda alınan glikoz ihtiyaç halinde kaslar, beyin ve hücreler tarafından kullanılır. Fazla olan glukoz miktarı ise glikojen olarak karaciğerde veya kaslarda depolanır. Gerekli durumlarda bu depolardaki glikojen glukozla çevrilerek tekrardan kullanılır. Besinlerden elde edilen glukoz miktarının hücre içine geçmesi pankreastaki Langerhans adacıklarındaki B hücrelerinden salgılanan insülin hormonu sayesinde olur. Ancak pankreastaki B hücrelerinde meydana gelen tahribatlar veya bozulmalar sonucu yeteri kadar insülin üretilmeyecek veya var olan insülin verimli olarak kullanılmayarak kan dolaşımında gereğinden fazla glukoz bulunmasına neden olacaktır. Vücutta fazla miktarda seyreden glukoz seviyesi hiperglisemi, gereğinden az glukoz seviyesi ise hipoglisemi olarak adlandırılmaktadır. (Ding ve ark., 2015; Sefil ve ark., 2013; Cofiansu ve ark., 2009).

American Diabets Assocition 2017 Standardlarına göre Diyabetes Mellitus (DM) tanısı için;

- I. 8 satlik açlıktan sonra venöz damardan alınan kanla bakılan açlık plazma glukozu > 126 mg/dl ve üzeri ise
- II. Gün içerisinde hiçbir açlık gözetmeksizin bakılan tokluk kan şekeri ise > 200 mg/dl ve üzeri ise
- III. Gebelik sürecinde yapılan 75gramlık oral glukoz tolerans test (OGTT) sonucu <200 mg/ dl ve üzeri ise
- IV. 3 aylık ortalama kandaki glukoz seviyesini gösteren HbA1c (glikolize edilmiş hemoglobin) testinin ise $> 6,5$ ve üzeri ise olması yeterlidir (Sefil ve ark., 2013; Cofiansu ve An, 2009;

Tanısı ve semptomları MÖ yıllarda fark edilmiş olan DM için birçok teori ortaya atılmıştır. Arethaeus ilk kez bu hastalığı kaleme alarak çok su içilmesi ve çok fazla idrara çıkmalarıyla özdeşirmiş olup hastalığa Diabetes tanımlamasını yapmıştır. Buradaki diabetes tanımlaması süzülme anlamına gelmektedir. Çok fazla sıvı alınıp, idrarla atılmayı ifade eder. Açılan yaraların kapanamaması ve kangrene yol açması ve tek tip bir hastalık olmadığı ise 1000'li yıllarda İbni Sina tarafından belirtilmiş olup, 1700'lü yıllarda ise Willis tarafından bu hastalığa sahip olan kişilerin idrarlarının tadının bala benzetilmesi nedeni ile Diyabetes tanımına ek olarak bal anlamına gelen Mellituste eklenmiştir (özge karaman ve ark.,2016; yasin hazer ve ark.,2017). Daha sonraki yıllarda resmi bir sınıflandırılma yapılmasına 1977 yılında Amerikan Diyabet Birliği (ADA) tarafından karar verilmiştir. Ancak, DM'nin etiyolojik özelliklerine göre sınıflandırması 1988 yılında WHO (World Health Organisation) tarafından tamamlanmış olup aşağıdaki gibi 4 başlık altında toplanmıştır (W.Kerner ve ark., 2014; Uludağ., 2010; Cofiansu ve ark., 2009; Taşlıpınar ve ark., 2017)

- I. Tip 1 Diyabet
- II. Tip 2 Diyabet
- III. Gestasyonel Diyabet
- IV. Diğer sebeplerden dolayı oluşan Diyabet

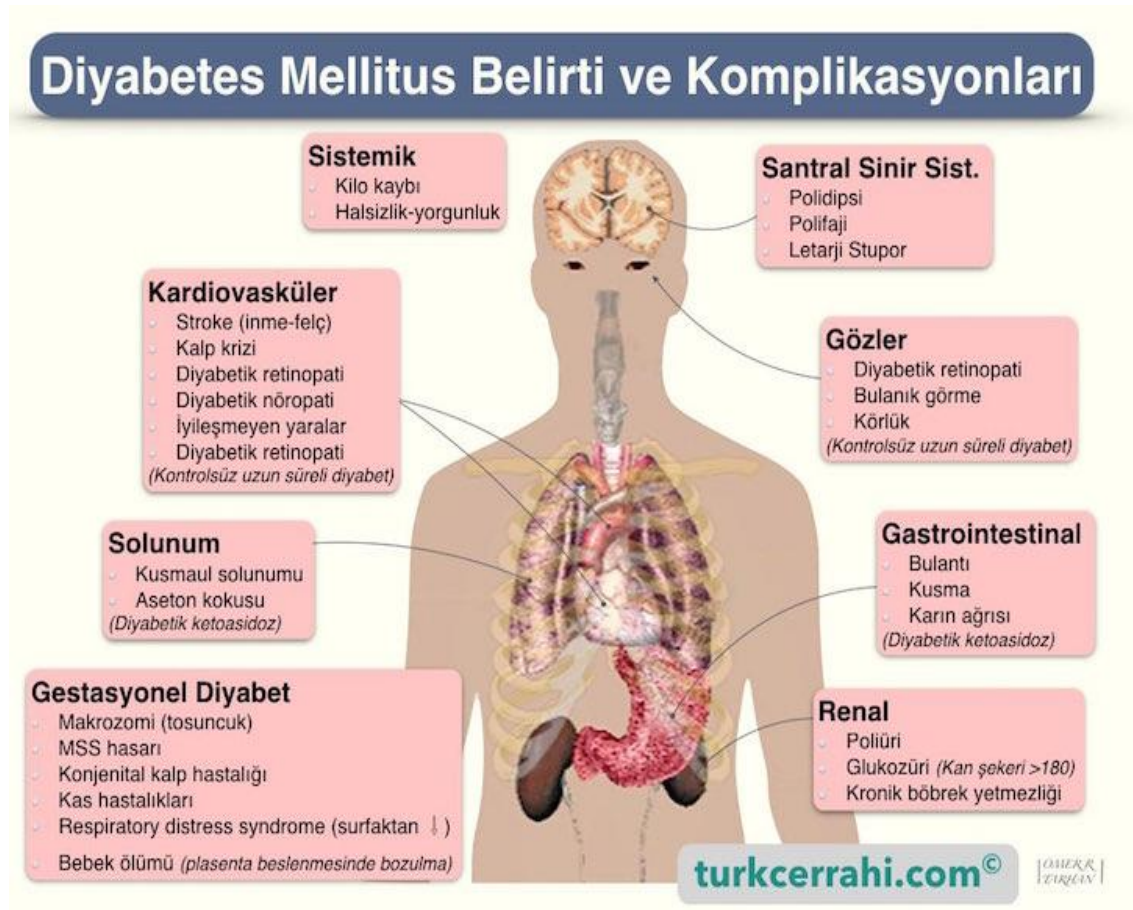
Juvenil diyabet olarak da bilinen tip 1 diyabette genetik faktörlere bağlı olarak, doğrudan insülin eksikliği olup, semptomlarını çocukluk çağından başlayarak ani bir şekilde (akut) göstermeye başlar. İnsülin takviyesi yaygın tedavi yöntemlerinden olup, tip 2 diyabetle kıyaslandığında toplumda görülme oranı oldukça azdır. Ketozis sık görülür. Pankreastaki beta hücre fonksiyonunu göstermeye yarayan C- peptid

değeri normalden daha düşük bir seviyededir. Tip 1 diyabet hastalarının aile öykülerinde genellikle bu hastalık gözlenmez, hastaların büyük bir kısmı zayıftır (Alves ve ark., 2013; Dinulovic ve Radonjic, 1990; Gobbo ve ark.,2015).

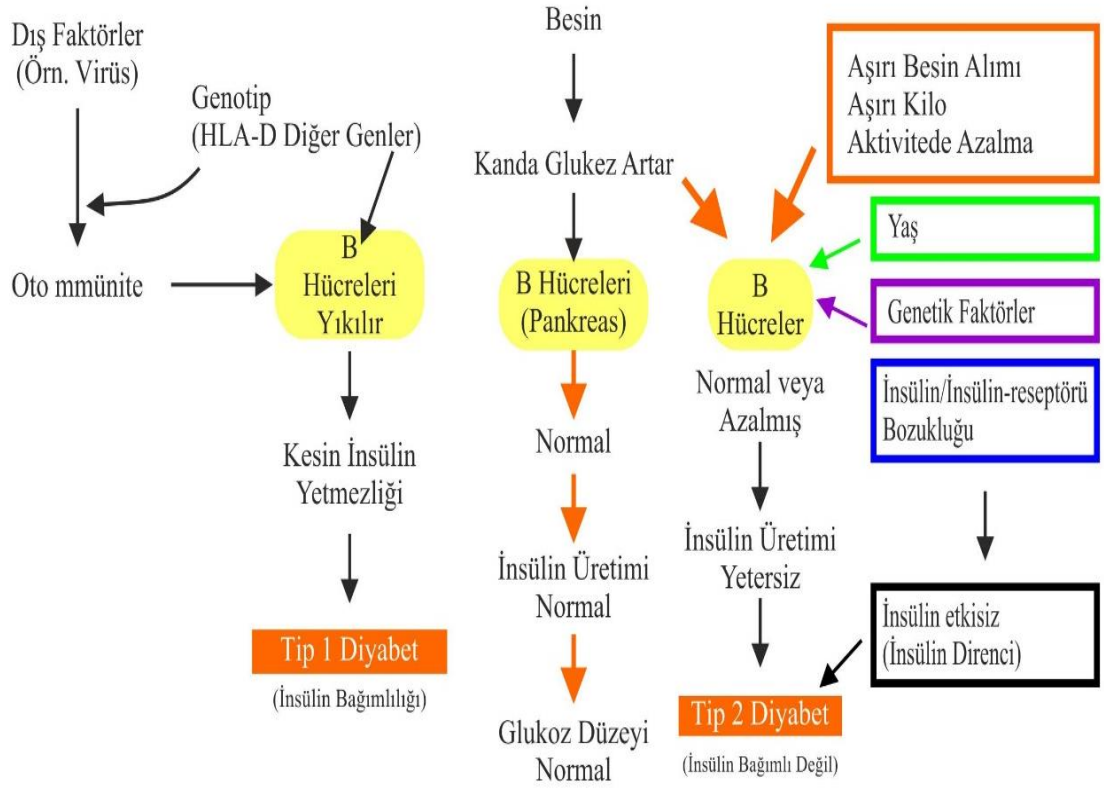
Tip 2 diyabet en sık görülen diyabet olup semptomları daha geç yaşlarda gözlenir, erişkin tip diyabet olarak adlandırılır. İnsüline bağımlı olmayan diyabet tipidir. Genellikle oral tedavi yöntemleri uygulanır. Yaşam tarzından ve genetik faktörlerden etkilendiği düşünülen bu hastalıkta pankreastaki Langerhans adacıklarından salgılanan insülin miktarında doğrudan azalma veya insüline karşı bir direnç oluşturulduğundan insülinin verimli olarak kullanılmadığı düşünülmektedir. Yaşam tarzında en az genetik faktörler kadar önemli olduğu bu tip diyabette hastaların çoğunluğu kilolu veya obez olup aile öykülerinde çoklu olarak tip 2 DM hastalarına rastlanmaktadır.(Şekil 2.10)

Diyabet tiplerinden bir diğeri ise gebelikte ortaya çıkan gestasyonel diabetes mellitusdur. Genellikle şeker yüklemesi adı verilen 50-75 gr glukozun hastalara içirilmesi ve ardından belli aralıklarla kandaki glukoz değerlerine bakılarak teşhis konulur. Gebelik sırasında görülen hiperglisemi bebek açısından riskli olup, genellikle doğumla beraber normal seviyeye gelmektedir. Fakat, gebenin hamilelikten sonra ileriki hayatında tip 2 diyabetle tanışması yüksek bir olasılıktır. Kanseri, kanser ilaçları, kortizol, mikroorganizma kaynaklı hastalıklarda geçici süreliğine kanda yüksek oranda şeker bulunmasına neden olmaktadır. Ayrıca pankreatit, tümör, kistik fibrozis de pankreasın fonksiyonunu bozan hastalıklar olup DM ye neden olan özel koşullar arasında sayılmaktadır. Bu tip DM'lerde tedavi ancak, etkenin tedavi edilmesiyle mümkün olur. Hiperglisemili insanlarda karbonhidrat ve lipid metabolizmasının sağlıklı çalışmamasından dolayı kanda

yüksek oranda seyreden glukoz miktarı kontrol altına alınamayıp özelde kan damarlarından başlayarak genelde tüm vücuda zarar vermektedir. Diyabetik ayak, nöropati, nefropati, cinsel iktidarsızlık, infertilite, kısırılık, kalp ve damar atheroskleroz sorunları da hipergliseminin yol açtığı hastalık çeşitleridir (Pane ve ark., 2018; Wu ve ark, 2014 ;Ding ve ark., 2015; Taşlıpınar ve ark., 2017). (Şekil 2.11).



Şekil 2.10. Diyabet Mellitus Komplikasyonları (Taşlıpınar ve ark., 2017)



Şekil 2.11. Diyabetin tipleri (Lüleci, 2000)

2.6. Sperm Hücresindeki Glukoz Metabolizması

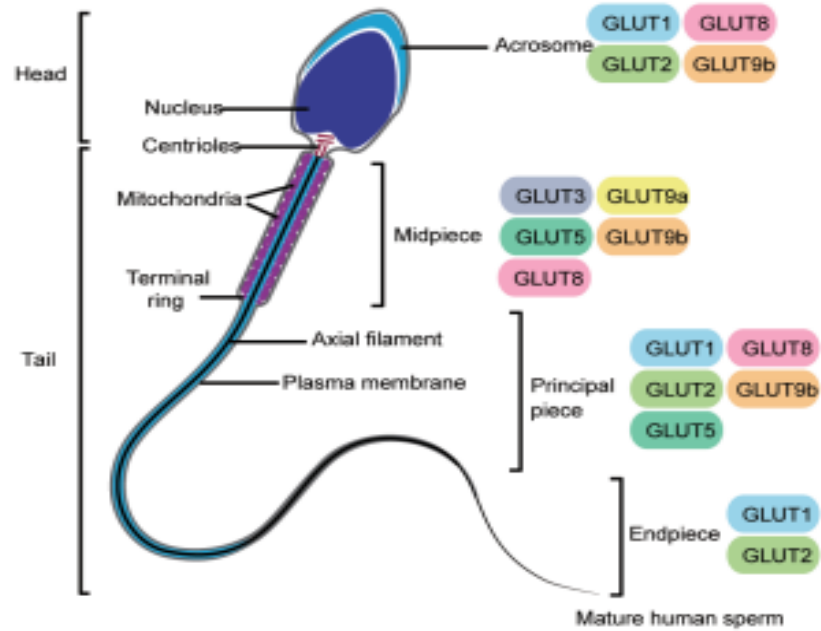
En farklılaşmış memeli hücresi olan sperm hücresinde amaç haploid yumurta hücresini dölleyerek diploid bir zigot oluşturmaktır. Bunun içinde gelişmemiş bir sperm hücresinin epididimide olgunlaşma, sonrasında kapasite olma ve akrozom reaksiyonu gibi bazı gelişimleri geçirmesi gerekmektedir. Sperm tüm bu gereksinimlerini karşılamak için anerobik glikolizis ve oksidatif fosforilasyon yaparak glukoz, mannoz ve früktoz gibi şekerleri enerji kaynağı olarak kullanır. Spermdeki endokrin metabolizması glikoliz, mitokondriyal oksidatif fosforilasyon veya pentoz fosfat mekanizması ile gerçekleştirir. Glukoz metabolitleri –OH yönünden zengin olup lipid tabakasını geçip hücre içine girmede çok yavaş ve verimsiz bir tutum sergilemektedir. Bu yüzden taşımayı lipid tabakasından içeriye taşımayı kolaylaştırmak için membran proteinlerine ihtiyaç duyarlar (Wu ve ark., 2014; Ding ve ark., 2015) (Tablo 2.1).

Membran Proteini	Transport Tipi	Taşınan Madde
Sodyum bağımlı glukoz taşıyıcıları (SGLT)	Aktif Transport	Glukoz
Glukoz taşıyıcıları (GLUTs)	Pasif Transport	Heksoz (Vitamin,Fruktoz,Amino Asit)

Tablo 2.1. Glukoz taşıyıcı membran proteinleri (Wu ve ark., 2014).

GLUT'lar 13 proteini olan bir protein ailesi olup, her biri doku spesifik olarak transport yaparak farklılık gösterirler. GLUT 1 ve GLUT 2 akrozomal bölge ve

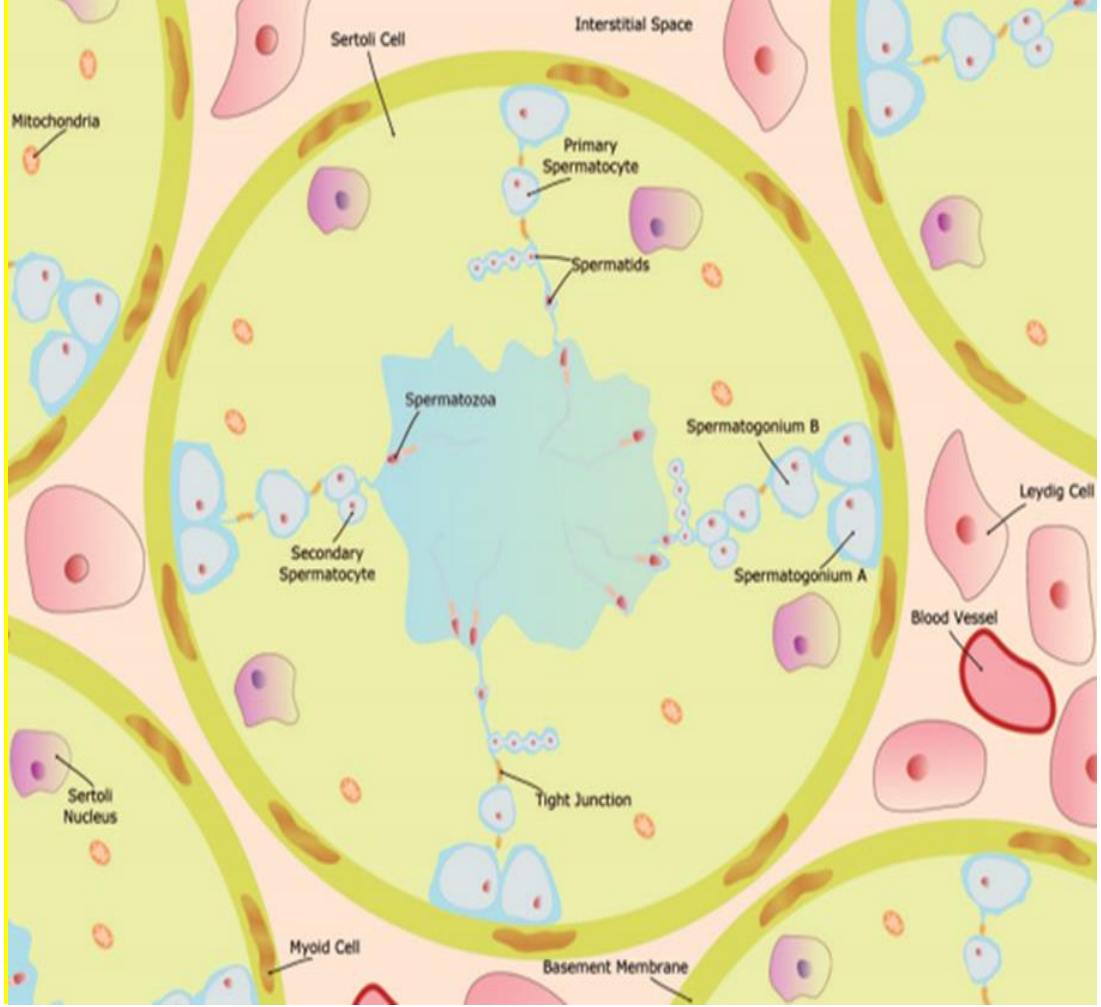
kuyruğun ilk parçası ile son bölgesinde bulunurken, GLUT 3 orta parça da bulunur (midpiece). GLUT 8 akrozom başlık kısmında ve boyun bölgesinde yoğun olarak varlığını sürdürürken, GLUT 4 hiçbir immünolojik tepki vermeyerek sperm hücresindeki konumu hakkında bilgi vermez. Spermatogenez işlemi için oldukça önemli olan glukoz, pasif olarak kan testis bariyerinden GLUTs yardımıyla pasif olarak geçer. Ayrıca GLUTs olgun sperm yapısında da yer alarak hücrenin hareket etme, dölleme özelliği gibi yeteneklerini kazanması için gerekli olan enerji taşımacılığını yapar (Şekil 2.12).



Şekil 2.12. İnsan sperm hücresi üzerinde yer alan glukoz taşıyıcı membran proteinleri ve bunların sperm üzerindeki konumları (Wu ve ark., 2014).

Seminifer tübüllerin yapısı boyunca, iki sertoli hücresinin arasında bulunan kan testis bariyerleri, yapmış olduğu sıkı bağlantılar, gap junction ve desmozom benzeri yapılar ile seminifer tübübülü apikal ve bazal olarak 2 ye ayırmaktadır. Kan-testis bariyerini oluşturan bu sıkı bağlantılarda önemli bir alış veriş kontrolü vardır ve

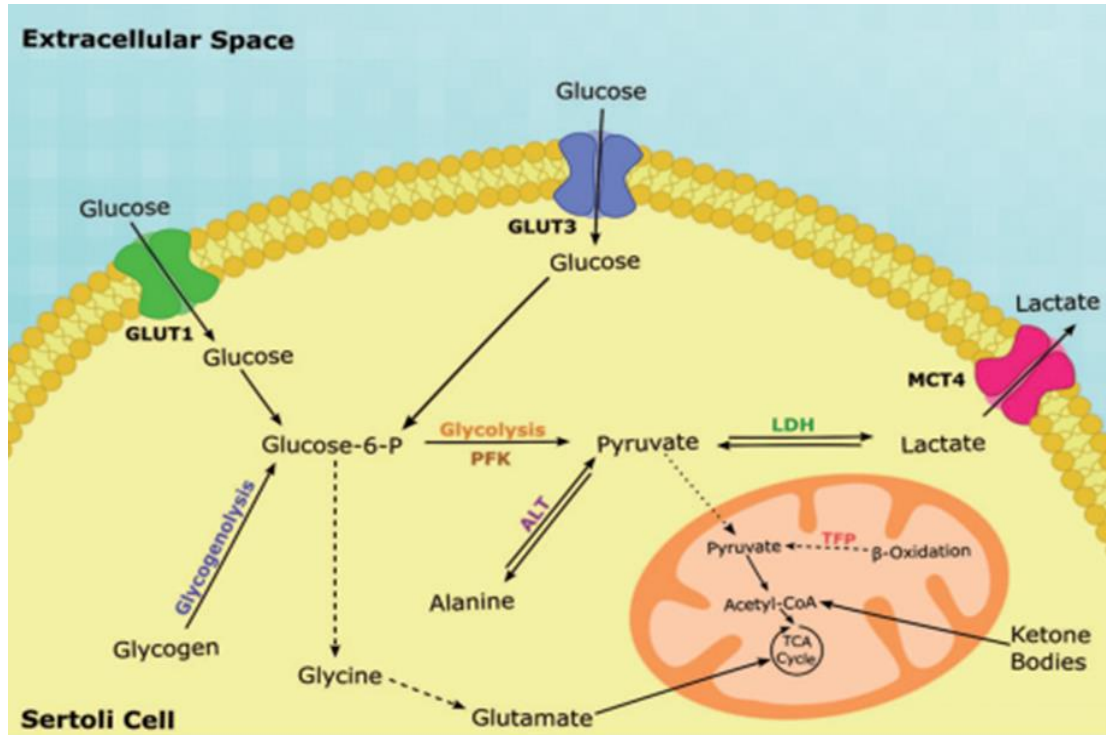
1Kilodalton'dan daha büyük olan hiçbir molekül bariyeri aşamaz (Alves ve ark., 2013) (Şekil 2.13).



Şekil 2. 13. Seminifer tübüllerde yer alan kan testis bariyeri gösterilmiştir (Alves ve ark., 2013).

Diğer tüm maddeler gibi glukoz ulaşımında kan testis bariyeri tarafından çok sıkı bir denetim altındadır. Hatta Sertoli hücreleri hücre dışındaki glukozu laktata dönüştürerek büyümekte olan germ hücrelerine iletir. Bu işlemde glukoz bariyeri sertoli hücrelerinin taşıyıcıları olan GLUT 1 ve GLUT 3 ün yardımıyla kolaylaştırılmış difüzyon yaparak geçer. GLUT 1 ve GLUT 3 aracılığıyla hücre içine glikoz alımı ve

laktat üretimi birbirine paralel olarak hormonal kontrolle bir sinerji içinde gerçekleşir (Şekil 2.14). Burada kontrolü yapan en önemli hormonlar cinsiyet hormonları ve FSH tır. Sertoli hücrelerinin yüzeyinde bulunan reseptörleri sayesinde dış ortamdaki glukoz miktarı hakkında bilgi alıp koşula göre mekanizmaya çalışma emri verilir. Glukoz kan testis bariyerini geçince testiküler hücrelere enerji kaynağı olarak kullanılmak üzere gönderilir. Bu ulaşımın yerinde ve yeteri kadar yapılması hem steroidlerin üretimi hemde spermatogenez işleminin sağlıklı bir şekilde sürdürülebilmesi için esastır (Alves ve ark., 2013).



Şekil 2.14. GLUT 1 ve GLUT 3 aracılığıyla hücre içine glikoz alımı ve bu sırada oluşan biyokimyasal mekanizma gösterilmektedir (Alves ve ark., 2013).

STZ ile deneysel diyabet oluşturulmuş deney hayvanlarında diyabetin ilk evresinden başlayarak, ciddi miktarda bir oksidatif stres artışı görülmektedir. Böyle bir artış ilk olarak steroidlerin üretimini ve sonrasında ise spermatogenez sürecini bozar. İnsüline

bağımlı diyabette ortamdaki Leydig hücrelerini uyarıcı insülin olmayınca Leydig hücreleride görevini tam olarak yerine getiremeyerek testesteron üretemeyecektir. Bundan dolayıdır ki ortamdaki testesteron miktarı daha azdır. Aynı mekanizma FSH –LH ile ilişkilidir. FSH miktarının az olması LH üretiminde inhibe etmektedir (Ding ve ark., 2015).

Tip 1 veya Tip 2 diyabete bağlı olarak testiste glukoz hemostazının sağlanamaması erkek üreme sistemindeki olumsuz sonuçlara neden olmaktadır. Spermdeki mitokondrial ve nüklear DNA hasarı veya yapısında meydana gelen oksidasyon kalitesiz spermatogenez süresi, düşük dölleme oranı, istenmeyen embriyo kalitesi, ejakülasyonda bozulma, ereksiyonda anomali, azalmış implantasyon ile sonuçlanabilir (Ding ve ark., 2015; Ding ve ark., 2013; Alves ve ark., 2013; Songur ve ark., 2016).

2.7. Oksidatif Stres

Canlı dokularda hücreler arası haberleşme devam ederken bir yanda serbest radikaller ve bir yanda ise antioksidanlar üretilmektedir. Burdaki amaç karşılıklı olarak denge halinde görevlerine devam etmek ve hücrel metabolizmayı olumsuz etkilememektedir. Oksidan olarak adlandırılan serbest radikallerin fazlalığının vücutta istenmemesinin nedeni, moleküllerden elektron alırken girdiği reaksiyonlar sonucunda ilişkili molekülün yapısında, fonksiyonunda, kalıtımında bozulmalara neden olması ve ayrıca girdiği tepkimeler sonucunda değişik enzimatik reaksiyonlara neden olmasıdır (Evans ve ark., 2003; Büyükgüzel ve ark., 2013; Ullah ve ark., 2015). Vücudun en önemli yapı taşlarından olan oksijenin bir kısmı serbest radikaller ile tepkimeye gireceği için, ROS devamlı olarak vücutta bulunmaktadır. Kararsız

halden çıkıp, kararlı hale geçmek isteyen oksijen radikalleri sürekli olarak hücreler ile iletişime geçip yapılarını bozmaktadır. Bu olumsuz reaksiyon ise birçok hastalığa neden olmaktadır. Reaktif oksijen türlerinden olan, tek başına hiçbir zararı olmayan süperoksit radikali dolaylı yoldan serbest radikal zincir reaksiyonunu gerçekleştirerek oksidanların üretilmesini sağlar. Sağlıklı bir hücrenin yapısında bol miktarda lipid, karbonhidrat, protein olduğundan vücutta fazla miktarda bulunan bu oksidanlar membranla temasa geçerek lipid peroksidasyonunu başlatır. Membranda başlayan lipid peroksidasyonu daha sonra kalıtım materyali olan DNA veya RNA'nın hasar görmesi ile son bulur. Sonuç olarak membran bütünlüğü ve protein dizilişi bozulan hücrede, hücre içi denge bozulmuş olup, birçok hatalı kodlama yapıma şansı artar ve böylelikle hastalık oluşumu kolaylaşır. Membranda gerçekleşen lipid peroksidasyonunun en önemli ürünlerinden biri olan Malondialdehid (MDA)'nın kandaki seviyesinin ölçülmesinin hücresel fonksiyon kaybının belirlenmesindeki yeri çok büyüktür. Ayrıca, hücreler arası haberleşmede, membran yapısında ve ulaşımda olumsuz etkisi vardır (Ullah ve ark., 2015). Başka bir deyişle oksidatif stres, genel olarak serbest radikaller ile antioksidanlar arasındaki dengenin antioksidanlar aleyhine bozularak serbest radikallerin galip gelmesi olarak tanımlanmaktadır. Vücutta artan oksidatif stres miktarı bunlarla paralel biçimde artacak olan antioksidan belirteçlerinin yani Cu, Zn, Fe gibi enzim kofaktörlerinin Süperoksit dismutaz (SOD), Glutasyon peroksidaz (GPx), Katalaz (CAT) gibi antioksidan savunma sistemlerinin ve oksidatif hasar biyo belirteçlerinden olan malondialdehitlerin (MDA) ve radikallerin kandaki seviyelerinin veya doku homojetanın ölçülmesi ile anlaşılabilir. (Yüzüak ve ark.,2015; Lekesizcan ve ark.,2016; Erdem ve ark.,2016; Fallah ve ark., 2017)

Vücutun savunma mekanizmalarında biri olan antioksidanların genel amacı birçok olumsuz sonuç içeren lipid peroksidasyonuna engel olarak, genetik materyali ve hücre çoğalmasını olumsuz etkilememektir. Kanser, diyabet, diyabetik retinopati, diyabetik nefropati, diyabetik nöropati, ateroskleroz, miyokardiyal enfarktüs gibi birçok hastalığın serbest radikallerin artmasıyla ilişkili olarak arttığı uzun yıllardır bilinmekte olup, antioksidanların koruyucusu etkisinde yaklaşık 30 yıldır bilinmektedir. Bu konuda yapılmış çok sayıda çalışma bulunmaktadır (Büyükgüzel ve ark.,2013; Asmat ve ark., 2016; Sarıkaya ve ark., 2010; Sezer ve ark.,2014).

Oksidanlar	Antioksidanlar
<p>Serbest Radikaller:</p> <p>Süperoksit</p> <p>Peroksil</p> <p>Hidroksil radikali</p> <p>Hidroperoksil</p> <p>Reaktif Nitrojen Türleri</p> <p>Nitrojen dioksit</p> <p>Nitrik oksit</p> <p>Radikal Olmayanlar:</p> <p>Nitröz asit</p> <p>Peroksinitrit</p> <p>Hidrojen Peroksit</p> <p>Hidrokloröz asit</p>	<p>Süperoksit dismutaz (SOD)</p> <p>Katalaz</p> <p>Glutasyon peroksidaz</p> <p>Glutasyon redüktaz</p> <p>A,E ve C Vitamini</p>

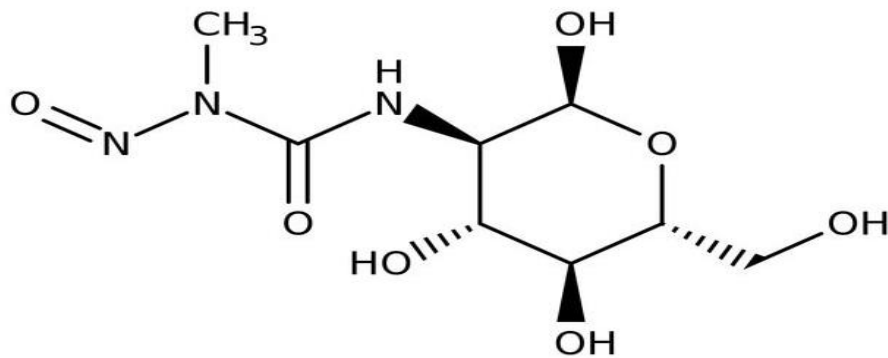
Tablo 2.2. Oksidanlar ve Antioksidanlar (Evans ve ark., 2003; Yüzüak ve ark.,2015; Lekesizcan ve ark.,2016)

2.8. Deneysel Diyabet Modeli Oluşturma

Diyabet hastalığının mekanizmasının daha da iyi anlaşılması, güncel tedavi yöntemlerinin bulunması ve hastalık seyrinin takip edilebilmesi için farklı deneyler yaparak çözüm odaklı çalışmak, yeni teoriler üretmek kaçınılmaz olmuştur. Streptozotosin, alloksan gibi kimyasal; pankreatektomi, hipotalamik lezyon gibi

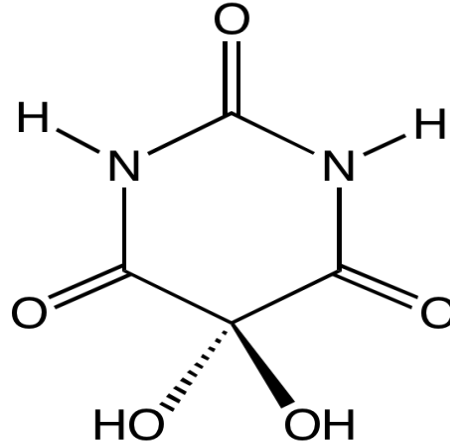
cerrahi; yüksek yağlı beslenme veya şekerli beslenme gibi diyet yöntemiyle; insülin bloke edici hormonların yüksek dozda enjekte edilmesi gibi hormonal; deneysel diyabet oluşturma yöntemleri vardır. Bu deneysel modellerde, pankreas adacıklarındaki hücreler dejenere olmakta, fonksiyonunu yitirmiş adacıklar görevlerini yerine getirememekte, kanda gerekenden fazla glikoz birikmesine yol açmaktadır (Erbaş ve ark., 2015).

1900'lü yıllarda *Streptomyces achromagenes* mantarından üretilen streptozosin (STZ) (2-deoxy-2-(3-(methyl-3-nitrosoureido)-Dglucopyranose) deneysel diyabet modeli oluşturmak için en çok kullanılan kimyasallardan biridir. *Streptomyces griseus* un metaboliti olan STZ yapısında glukoz molekülü olduğu için, glukoz resöptörleriyle rahatlıkla hücre içine girer (Erbaş ve ark., 2015). Pankreasa gelen STZ burada alkilenme reaksiyonu meydana getirerek Langerhans adacıklarını tahrip eder ve adacıkların tamamıyla fonksiyonlarını yitirmelerini sağlayarak insülin üretimini azaltır veya tamamen durdurur.- 20 °C te güneşten korunarak, uygulama yapılmadan kısa bir süre önce sitratlı tampon (pH=4) içerisinde hazırlanarak 4°C de muhafaza edilerek kullanılmalıdır (Akbarzadeh ve ark., 2007).Genellikle ratlarda intravenöz veya intraperitoreal olarak 50-100 mg/kg dozlarında kullanılır (Şekil 2.15).



Şekil 2.15. STZ' nin kimyasal formülü (Kurcer ve Karaoğlu, 2012).

Alloksan yöntemiyle diyabet oluşturma STZ den sonra en çok tercih edilen yöntemdir. Brugnatelli tarafından 1818'te izole edilmiş olup kullanımı 1943 te başlamıştır. Hidrofilik özellik gösterip, glukoz benzeri bir yapıya sahiptir. Alloksanın + 4⁰ C de saklanarak kullanılması gerekmektedir. Toksik etkisi pankreastaki B hücrelerine özgüdür dolayısı ile insülin üretimini durdurur. pH'ın sabit olmaması, şekerlerin alloksanın etkisini kısıtlaması çeşitli doz varyasyonları bulunması nedeniyle pankreas dışında bazı organlara da zarar verir (Şekil 2.16).

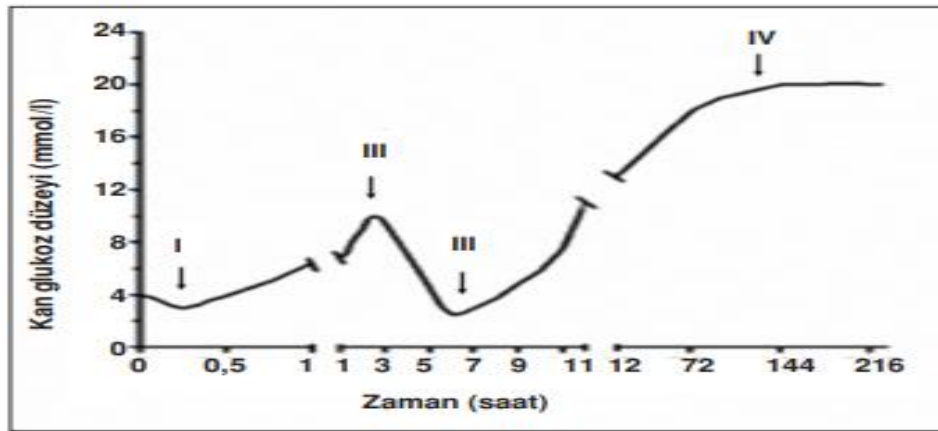


Şekil 2.16. Alloksanın kimyasal formülü (Kurcer ve Karaoğlu, 2012).

Alloksan ile daha yüksek kan seviyeleri, daha erken sürede ortaya çıkmaktadır ancak STZ modelinde ketozis oluşum oranı daha düşük olarak görülmektedir. STZ yönteminde ise pankreastaki beta hücrelerinde rejenerasyon oluşmakta, yüksek kan şekeri düşmektedir, oluşturulan diyabet geri dönüşümlüdür. Bundan dolayı STZ ile diyabet oluşturma yöntemi uzun süreli deneyler için uygun olmayabilir.

Kimyasal ajan uygulanmasından sonra, Şekil 2.17 de görüldüğü gibi denekte 3 fazlı bir tepkime oluşmaktadır:

- **Geçici Hiperglisemi Fazı:** Yaklaşık olarak uygulamadan sonraki ilk 2 saati anlatır. Glikojenin parçalanmasına bağlı olarak kan seviyesindeki glukoz miktarı ani olarak yükselmektedir. Bu nedenle STZ uygulamasından önce yaklaşık olarak 10-12 saat öncesinden hayvanlar aç bırakılmakta, böylece glukoz miktarındaki artış bir nebze olsun önlenmektedir .
- **Şiddetli Hipoglisemi Fazı:** Uygulamadan yaklaşık 6 saat sonra başlayıp, ilk 24 saat devam eden süreyi anlatmaktadır. Kan insülin miktarı çok yüksektir. Bu süreçte hipoglisemiye bağlı ölümler çok olur. Bundan dolayı deneklere şeker yönünden zengin sıvı verilmesi önerilmektedir.
- **Kalıcı Hiperglisemi Fazı:** Uygulamadan sonraki ilk 10- 12 saatlik süreyi izler. Bu süreçte insülin seviyesi daha azdır, ve süreç bu şekilde devam eder (Şekil 2.17).



Şekil 2.17. Kimyasal yolla deneysel diyabet oluşturulması sırasında kan glukoz seviyesinde meydana gelen değişiklikler şekilde gösterilmiştir (Kurcer ve Karaoğlu, 2012; Lenzen, 2008; Köroğlu, 2019).

2.9. Corchorus Olitorius (Molehiya)

Tillaceace ailesinin bir türü olan Corchorus Olitorius (CO), çiçekli bir bitki olup tropikal veya yarı tropikal bölgelerde yıllık olarak yetiştirilir. Boyu 90 -120 cm, yaprak uzunluğu 6-10 cm, yaprak genişliği 3,5 – 5 cm arasında değişen, tüysüz kökü,ıspanak benzeri yaprakları ve açık sarı renk, küçük çiçekleri bulunmaktadır (Oyedeji ve ark., 2013; Adedosu ve ark., 2015). Molohiya, Molukhia, Mulukhiyya, Mloukhiya diye de tercüme edilse de Kıbrıslı Türkler tarafından Molohiya, İngilizler tarafından jüte ve Japonlar tarafından Moreheiya olarak tanımlanır. Esas olarak krallara layık anlamını taşıyan Mulukiya kelimesinden türer. Corchorus Olitorius çok değerli bir antioksidan olarak bilinmektedir (Oyedeji, Bolarin & Akinbode, 2013). Asya, Mısır, Afrika ve Kıbrısta yetiştirilen bu bitki Kıbrısın Kuzeyinde kültürel bir yemek olarak oldukça çok tercih edilir. Pişirilmiş tadı bamyayı anımsatmasa da piştiğinde bamya gibi yapışkan bir kıvam alır. Yeşil hali ile salata, çorba, garnitür, yemek, baharat elde edilerek, kurutulmuş hali ise de bitkisel çay olarak tercih edilir (Ademiluyi, Obohve ark., 2015; Hamzah ve ark.,2014). CO, vitamin, lif, mineral, protein, fosfor ve demir yönünden oldukça zengindir. İçerisindeki 30 dan fazla vitamin, minarel, eser minarelleri ile insan sağlığı açısından büyük önem taşır (Tablo 2.3). Lif yönünden de oldukça zengin olan CO günlük önerilen vitamin C kaynağının yaklaşık olarak %70'ini, A Vitamininin ise %25 ini karşılar (Adedosu ve ark., 2015 Al Batran ve ark.,2013; Hosen ve ark.,2016; Helaly ve ark.,2017).

İçerdiği vitaminler sayesinde cildi yumuşatıp, nemlendirerek erken yaşlanmaya karşı cildin dirençli olmasına yardımcı olur. İçeriğindeki yüksek miktardaki Demir (Fe), Kalsiyum (Ca), Magnezyum (Mg) Selenyum (Se) ve diğer mineraller sayesinde kemik sağlığını koruyarak güçlendirir böylece osteoporaza karşı koruma sağlar. Yüksek potasyum aracılığı ile kan basıncının düşmesine dolaylı olarak yardımcı olur çünkü, potasyum kan damarlarını genişletici etkisi ile kardivasküler sistem üzerindeki gerginliği azaltır. Fazla miktarda demir içeriği ile kırmızı kan hücrelerinin üretimini artırarak anemi meydana gelme oranını azaltır ve dolaşımdaki enerjinin artmasına neden olur. Diğer yeşil yapraklı bitkiler gibi lif yönünden zengin olup sindirimi kolaylaştırır. Kabızlığı gidererek şişkinliği kasılmayı azaltır ve besinlerin geri emilimini artırır. Aynı zamanda yüksek lif miktarı kan dolaşımındaki kolestrol miktarını da azaltmaya yardımcı olur çünkü, lifler kötü kolestrole (LDL) bağlanarak onları vücuttan uzaklaştırır (Ademiluyi ve ark., 2015; Hamzah ve ark., 2014; Mibei ve ark., 2012). Böylece kalp hastalıklarının oluşum yüzdesinde azalma meydana gelir. A, E ve C vitaminlerini içermesinden dolayı muhteşem bir vitamin kaynağıdır. C Vitamini beyaz kan hücrelerinin (WBC) üretimini indükleyerek, A ve E vitaminleri ise antioksidan özellikleri ile kanser oluşumunu, kronik hastalıkların oluşum riskini engellemeye yardımcıdır Bu özellikleri nedeniyle CO'nun çeşitli hastalıklardaki koruyucu etkileri konusunda çok sayıda çalışma bulunmaktadır. Canlandırıcı, yatıştırıcı, antioksidatif, antihepatotoksik, antimetastatik, yağ peroksidasyonunu engelleyen, antibakteriyel, antikonvulsiv, diüretik özelliklerinden dolayı alternatif tıpta yaygın olarak kullanılan seçkin bitkiler arasında yer almaktadır (Mibei ve ark.,2012; Airaodion ve ark., 2019; Al Batran ve ark.,2013; Hosen ve ark.,2016; Helaly ve ark.,2017).

B6 Vitamini	A Vitamini	Niacin (B3)
K Vitamini	Selenyum	K Vitamini
Demir	Amino Asit	Fosfor
Kalsiyum	Karatenoids	Potasyum
Çinko	Polysaccarides	Magnezyum
Şeker	Fenolic Asit	C Vitamini
Protein	Mineral	E Vitamini

Tablo 2.3. Corchorus Olitorius içerisinde yer alan bileşenler almaktadır (Oyedeji ve ark.,2013; Adedosu ve ark.,2015 ; Airaodion ve ark.,2019)



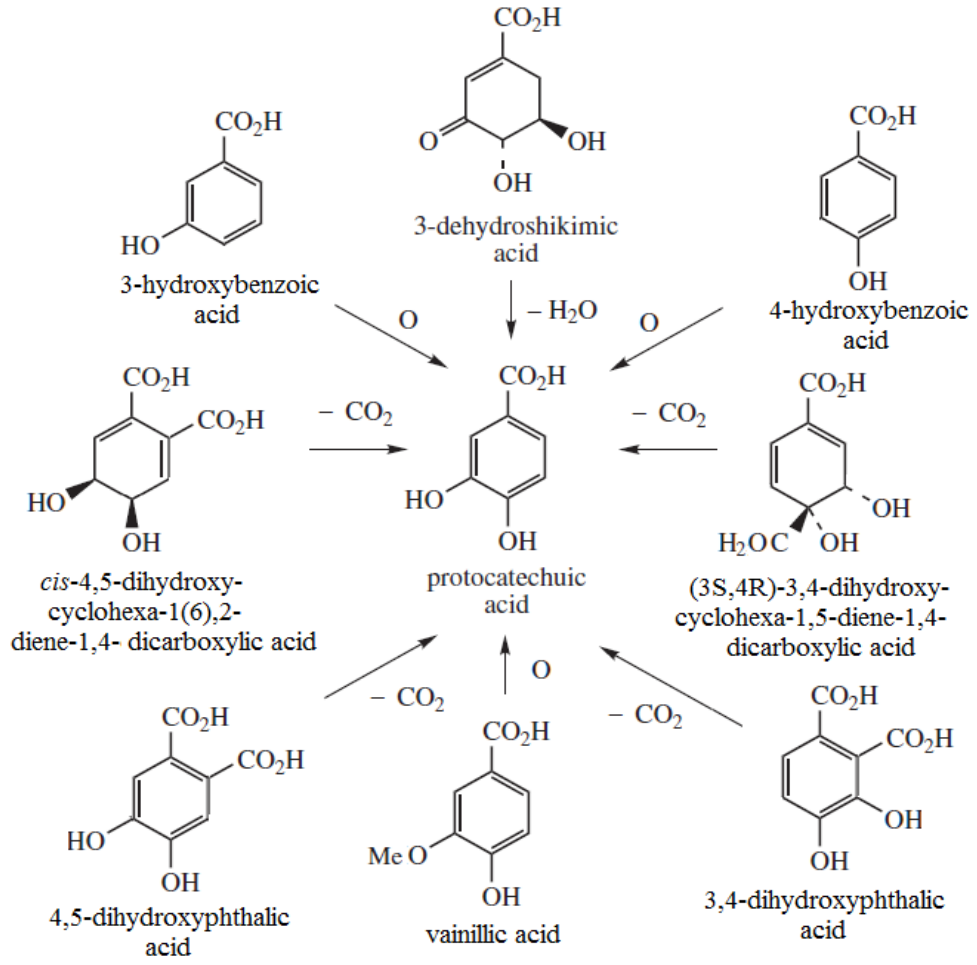
Şekil 2.18. Corchorus olitorius'un taze hali (Nedime Mercan)



Şekil 2.19. Corchorus olitorius'un kurutulmuş hali (Nedime Mercan).

2.10. Protocatechuic Acid (PCA)

İnsan vücudunda büyük miktarlarda bulunan ve oksidatif strese karşı savaşta yer alan en önemli antioksidan gruplarından biride Polifenollar olup phenolik asid, flavonoidler, lignanlar gibi farklı alt gruplara ayrılmaktadır. Fenolik asidin bir türü olup, antioksidan özelliği çok iyi bilinen vanillik asit, gallik asit ve ferulik asit ile karboksil grup içermeleri açısından benzer yapı gösteren protocatechuic acid (PCA), doğada çok yaygın olarak bulunmakta ve alternatif tıpta da oldukça çok tercih edilmektedir (Şekil 2.20).



Şekil 2.20. PCA'nın biyosentezi.(Reis ve ark., 2010)

İnsanların kolaylıkla erişebileceği pirinç, zeytin yağı, biberiye, fındık, erik, üzüm, yenidünya ve havuç gibi birçok bitki ve türevleri PCA yönünden oldukça zengindir. Ayrıca hayvan yiyecelerinden olan kepek ve tahılda fazla miktarda PCA içermektedir (Kakkar ve ark., 2014 ; Semaming ve ark., 2015). Kimyasal formülü 3,4-dihydroxybenzoic acid olarak bilinen PCA, serbest oksijen radikalleri ile reaksiyona girdiğinden çok iyi bir antioksidan, antikanserojen, antidiyabetik, antiradikal ve nörolojik sistemi koruyucu etkileri bilinmektedir. Kaynama noktası 41 °C, erime noktası 221 °C olan PCA normalde gri veya ten rengine çok yakın olup

puğra yapısındadır. Ayrıca alkol ve etherde de özülebilme kapasitesindedir. Bugüne kadar birçok araştırmada kullanılmış olup antiviral, kanser karşıtı, yaşlanmayı geiktirici, ülser oluşumuna karşıt, antibakteriyel antioksidan, antifibrotik birçok koruyucu etkileri bilinmektedir (Semaming ve ark., 2015; Safaeian ve ark., 2016; Yüksel ve ark., 2017).

3.GEREÇ VE YÖNTEM

3.1.Corchorus Olitorius Bitkisinin Elde Edilmesi

Demirhan bölgesinde trafikden uzak, kimyasaldan arındırılmış, dinlendirilmiş toprak üzerine ekilen Corchorus Olitorius tohumları, tatlı kuyu suyu ile sulanarak, hasatın büyümesiyle yaklaşık 50 gün sonra orak yardımıyla biçildi ve yaprakları dallarından ayırarak ayıklandı (şekil 3.1).



şekil 3.1. Corchorus olitorius taze hali.



Şelil 3.2. Ayıklanan Corchorus Oliterius'un kurutulmuş şekli.

3.2. Corchorus Olitorius Ekstraktının Hazırlanışı

- Yakın Doğu Üniversitesi, Eczacılık Fakültesine götürülen kurutulmuş CO değirmen içerisine yerleştirilerek, öğütülüp toz haline getirildi (Şekil 3.2).



Şekil 3.3. Değirmende öğütülen Corchorus Olitoriusun toz hali.

- Toz haline gelen kurutulmuş molehiya, sıkıca tülbente sarılıp %96 lık ethanol ile birlikte perkilatr içerisine yerleştirildi.
- Perkilatrn aēzı kapatılarak molehiya ve alkol karışımı 24 saat dinlenilmesi ve szlmesi için bırakıldı (şekil 3.4).



şekil 3.4. Perklatrde bekletilen CO'nun görüntüsü.

- Szlen alkol ve CO karışımı balon jojoye aktarılarak, rotary evaporate ile kuruluēa kadar uçuruldu.
- Rotary evaporate ile uçurulan sıvının ardından, balon jolenin etrafına yapışan molehiyalar DMSO ve spatula yardımıyla kazınarak çıkarıldı.



Şekil 3.5. Rotary evaporatörde uçurulan CO.

YDÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans tez çalışmasında kullanılan Kıbrıs Demirhan Bölgesine ait CO içeriği Tablo 2.4 te görülmektedir (Soykut ve ark., 2018).

Rt	[M-H] ⁻	MS ²	Identified as	Extract
4.1	341	179, 161	Caffeoyl glucose	W
4.7	353	191, 179	3-Caffeoylquinic acid	W
9.9	463	299, 271, 255	Quercetin glucoside	W
10.9	505	299, 271, 255	Quercetin acetylglucoside	W
11.5	515	353, 191, 179, 173	3,5-Dicaffeoylquinic acid	W
12.1	515	353, 191, 179, 135	1,3-Dicaffeoylquinic acid	W
12.6	489	284, 255, 227	Luteolin / kaempferol acetylglucoside	W

Tablo 3.1. CO'nun HPLC sonucu bileşenleri.

3.3. STZ'nin Hazırlanışı:

(SIGMA)



4,5 pH'ta, 0,1 C₆H₅Na₃O₇ (sodyum sitratta) çözüldü.

3.4.PCA Hazırlanışı:

- 145 mg PCA ve 6 cc distille su falkon tüpüne konuldu.
- 10 dakika inkübatörde PCA'nın erimesi sağlandı.
- Daha sonra 5 dakikalık vorteks işlemi ile homojen hale getirildi.

3.5.Deney Grupları

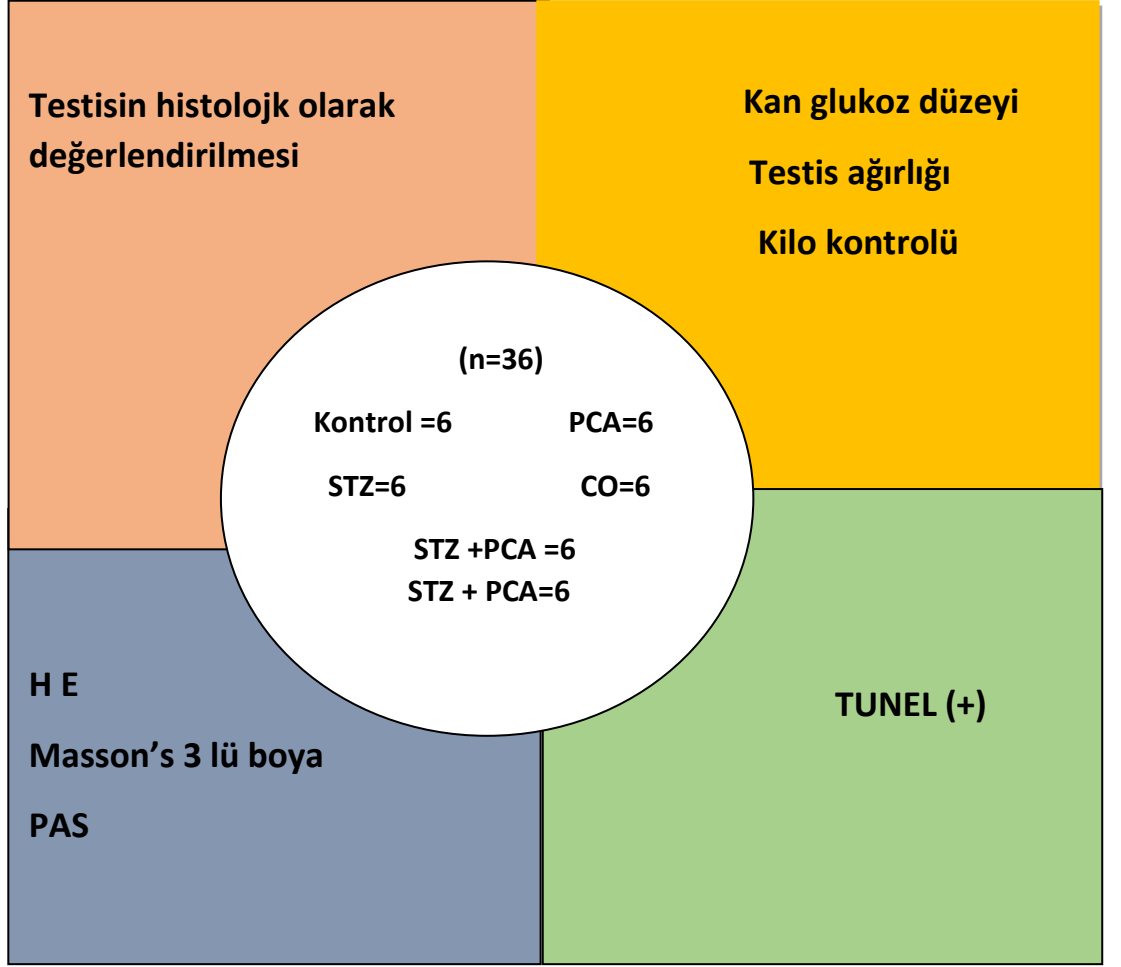
Çalışmada toplam 36 adet, 2-3 aylık, 250-300 gr ağırlığında Wistar Albino erkek sıçanlar kullanıldı. Çalışma YDÜ Deney Hayvanları Deneyleri Yerel Etik Kurulundan izin alınarak yapılmıştır. Sıçanlar, 24± oda ısısında, 12 saat karanlık, 12 saat aydınlık ortamda barındırıldı. Su ve yem kısıtlamasına gidilmeyerek, ad libitum beslendi.

Deney grupları aşağıdaki gibi düzenledi:

1. Kontrol grubu (n=6): Herhangi bir işlem yapılmadı.
2. Diyabetes Mellitus Grubu (n=6): Deney öncesi 12 saat aç bırakılan sıçanlara, 60 mg/kg streptozosin (STZ) (0.1molar sitrat buffer'da (pH=4.5) çözülmüş eriyikten 0.5ml/kg) intraperitoneal tek doz olarak uygulandı. STZ enjeksiyonundan sonra deneklerin hipoglisemisini önlemek için içme sularına %30 dekstroz katıldı. STZ enjeksiyonundan 48 saat sonra kuyruk veninden kan alındı, glukoz düzeyine (Plus Med- Accuro Cat No:pm 1-300) kit ile bakıldı. Kan şeker değerleri 250 mg/dl ve üzeri sıçanlar diyabet olarak kabul edildi (15,16).
3. Diyabetes Mellitus + Corchorus Olitorius Grubu (n=6): STZ ile diyabet oluşturulan sıçanlara, 250mg/kg Corchorus Olitorius suda çözülerek oral olarak gavaj ile 20 günlük deney süresince hergün verildi.
4. Corchorus Olitorius Grubu (n=6): Sıçanlara sadece 250mg/kg Corchorus Olitorius suda çözülerek oral gavaj ile 20 günlük deney süresince hergün verildi.
5. DM + PCA grubu (n=6): STZ ile diyabet oluşturulan sıçanlara, 20mg/kg PCA suda çözülerek oral gavaj ile 20 günlük deney süresince hergün verildi.

6. PCA grubu (n=6): Sıçanlara sadece 20mg/kg PCA günlük 20 gün oral gavaj ile verildi.

Deney öncesinde ve bitiminde sıçan vücut ağırlıkları tartıldı. 20 gün sonunda genel anestezi (90 mg/kg ketamin ve 10 mg/kg ksilazin) yapılan sıçanlardan kan ve doku örnekleri alındı, kan şekeri düzeyleri ölçüldü ve testis dokuları tartıldı. Sağ testis dokuları %10 nötral formalin ile tespit edildi. Dokular dereceli alkol serilerinden ve ksilolden geçirildikten sonra parafin bloklar hazırlandı. Doku bloklarından 4-5µm kalınlığında kesitler alınarak ve HE, PAS ve Masson Trikrom ile boyandı. Seminifer tübül hücrelerindeki apoptozu (hücre ölümü) göstermek için TUNEL boyaması yapıldı. Her denek testis dokusunda 10 adet seminifer tübüldeki TUNEL immün boyanan hücreler x40 objektif büyültmesi ile sayıldı.



Şekil 3.6. Deneklerin ayrıldığı gruplar ve yapılan analizlere ait deney Şeması.

HE Boyama Yöntemi

(Hematoksilen, Merck, hx69657153, Almanya), (Eozin, Merck, HX69574839, Almanya)

1. Dokular deparafinizasyon işlemi için ilk olarak etüv içerisindeki sıcak ksilolde 1 saat bekletilerek, ardından yaklaşık 10 dakika soğuk ksilolde bekletildi.
2. Deparafizasyon işlemi ardından dehidrasyon işlemi için doku preparatları sırasıyla %95, %80 ve son olarak %70 lik alkoller içerisinde 10 ar dakikalık süre ile bekletildi.
3. Alkolden çıkarılan dokular alkol uçunca Hematoksilen ile yaklaşık 4 dk boyandı.
4. Hematoksilenden çıkarılan preparatlar üzerilerindeki fazla boya akana kadar distile su ile yıkandı.
5. Preparatlar birkez daha asit alkol ile muamele edildi
6. Asit alkolden sonra distile sudan geçirilen preparatlar eozin ile yaklaşık 3 dk boyandı
7. Fazla olan eozin uzaklaştırılmak için %70, %80 ve %95 lik alkol serilerinden geçirildi.
8. Alkolden çıkarılan doku preparatları açık havada kurutularak, ksilol içerisine alınıp burada 15 dk bekletildi.
9. Ksilolden çıkarılan doku preparatları entellan ve lamel yardımıyla kapatıldı.

Masson 3 lü Boyama Prosedürü

(Bio-Optica, 04-010802- Italy)

1. Dokular sırasıyla 1 dk sıcak ksilolda ardından 1 dk oda sıcaklığındaki ksilolde bekletildi.
2. Ksilol serisinden sonra preparatlar %100 ve ardından %80 alkol içerisinde 1 er dakika bekletildi.
3. 30 damla Hematoksilen A ve 30 dakika hematoksilen B bir kabın içerisine damlatılarak, iyice karıştırıldı.
4. Preparatlar boyama kabının üzerine sıralanarak, üzerilerine 1 er damla hematoksilen A ve hematoksilen B karışımından damlatıldı.
5. 10 dakikalık bekletmenin ardından, preparatlar yıkandı.
6. Yıkanan preparatlar, kuruması için oda sıcaklığında 20 dakika bekletildi.
7. %1'lik pikrik asitte 10 dakika bekletildikten sonra 1 dakikalık süre ile yıkandı.
8. Preparatlara 1'er damla fuksin damlatılarak 4 dakika bekletildi.
9. Fosfomolibdik asit damlatılarak 10 dakika bekletildi.
10. 1 dakika boyunca distille suyla preparatlar yıkandı.
11. Masson Analin damlatılarak 5 dk boyunca bekletildi.
12. Ve son olarak preparatlar distiile su ile yıkanarak, kapatıldı.

PAS (Periodic Acid Schiff)

(Bio-Optica, 04-130802, Milano)

1. Kuruması için etüvde bekletilen preparatlar, etüvden çıkartılarak sıcak ksilol içersind bekletildi.
2. Ksilolden çıkan preparalar, distille su ile yıkandı.
3. Preparatlar üzerine 10 damla reaktif A damlatılarak,10 dakika bekletildi.
4. Distille su ile yıkanan preparatlara reaktif B damlatılarak,20 dakika bekletildi.
5. Reaktif B ile boyanan preparatlar, distille su ile yıkanarak, üzerilerine 10'ar damla reaktif C damlatıldı, ve 2 dakika bekletildi.
6. Reaktif C ile boyanan preparatlar yıkanmadan durulandı.
7. Durulanan preparatların üzerine 10'ar damla reaktif D damlatıldı.
8. Reaktif D' nin ardından preparatlara reaktif E damlatılarak 3 dakika bekletildi.
9. Boyanan preparatlar akan su altında 5 dakika bekletilerek, boya fazlalıklarının akması sağlandı.
10. Alkol serilerinden geçirilen preparatlar, ksilen içersine alındı, ardından lamel ve entellan yardımıyla kapatıldı.

Terminal-deoxynucleoitidyl transferase mediated nick end-labeling (TUNEL)

Boyama Prosedürü:

(ApopTaq Plus Peroxidase In Situ Apoptosis Detection Kit, Sigma, S7101-Almanya)

1. Polilizinli lama alınan doku kesitleri, 1 gece 60°C etüvde deparafinizasyon gerçekleşmesi için bekletildi.
2. Etüvden çıkarılan preparatlar %100 ve %80 alkol serilerinden 2 şer dakika bekletildi.
3. Alkol serilerinden geçirilen preparatlar 3 kez arka arkaya PBS ile yıkandı. Fazla olan PBS peçete yardımıyla nazikçe alındı.
4. Lam üzerindeki doku örneğinin etrafı dekapen kalemi ile dikkatlice çizilerek, doku üzerine proteinase K damlatıldı. 15 dakika bekletildi.
5. PBS ile 3 kez arka arkaya, 5 er dakika bekletilerek dokular yıkandı.
6. H₂O₂ (Hydrogen peroxide) damlatılarak 5 dk. bekletildi.
7. Her defasında 5 dk beklemek koşulu ile dokular PBS ile 3 kez arka arkaya yıkandı.
8. Equilibration Buffer damlatılarak 5 dk bekletildi.
9. Negatif kontrol hariç diğer lamlara TdT Enzim damlatılarak 37°C etüvde 1 saat bekletildi.
10. Stop wash buffer damlatılarak 10 dk. bekletildi.
11. Her defasında 5 dk beklemek koşulu ile dokular PBS ile 3 kez arka arkaya yıkandı.
12. Anti- Digoxigenin Peroxiadase damlatılarak 30 dadika bekletildi.
13. PBS ile dokular 5 er dakika bekletilerek 3 kez yıkandı.

14. 490 DAB dilution ve 10 DAB ile hazırlanan DAB solüsyonu lamalar üzerine damlatılarak 4 dakika bekletildi.
15. Her defasında 2 dakika bekletilmek koşulu ile dokular 3 kez distille su ile yıkandı.
16. Bio-Optica Papanicolaou Ematossilina Harris ile dolular boyandı.
17. Her defasında 5 dakika bekletilmek koşulu ile dokular 3 kez distille su ile yıkandı.
18. Lamalar sırasıyla %80 ve %90 alkol serilerinden 1 er dakikalık süreyle geçirildi.
19. Açık havada lamalar üzerindeki alkoller uçtuktan sonra, dokular ksilende bekletildi.
20. Preparatlar korunup muhafaza edilebilmesi için entellan yardımıyla lameller lamaların üzerine yerleştirilerek kapatıldı.

İstatiksel Yöntem

Vücut ağırlıkları, Testis ağırlıkları, Kan şekeri düzeyleri, TUNEL boyanan seminifer tübül hücrelerinin sayısal verileri istatiksel olarak değerlendirildi. İstatistiksel yöntem olarak SPSS programı kullanıldı. Gruplar arası sonuçları karşılaştırmak için Kruskal Wallis testi uygulandı. İstatiksel olarak önemliliğin olması halinde grupları ikili olarak kıyaslamak için Mann Whitney U testi yapıldı. Önemlilik düzeyi $p < 0,05$ olarak belirlendi.

4.BULGULAR

4.1. Kişisel Gözlem

20 günlük deney süresince tüm gruptaki ratların canlı ve hareketli olduğu, yem yemelerinde veya su alımlarında bir problem olmadığı kaydedildi. STZ grubundaki ratların, çok yem tükettiği, kafes talaşlarının diğer gruplara göre daha çok ıslandığı gözlenmiş olup, daha fazla idrar çıkardıkları belirlenmiş ve diyabet ile ilişkilendirildi. Deneyin ilerleyen günlerinde STZ + PCA grubunda idrar çıkışının, STZ +CO ve STZ grubuna göre azaldığı gözlemlendi.

4.2. Deneklerin Deney Öncesi Ve Sonrası Vücut Ağırlıkları, Deney sonrası testis ağırlıkları

Tablo 4.1, Tablo 4.2, Tablo 4.3 ve Tablo 4.4'de deneklerin deney öncesi ve sonrasındaki vücut ağırlıkları ve testis ağırlıklarının mean, median, standart sapma ve p değerleri verilmiştir.

Mean ± SD	Deney Öncesi Vücut Ağırlıkları (gr)	Deney Sonrası Vücut Ağırlıkları (gr)	Deney sonrası Sağ Testis Ağırlıkları (gr)
STZ	243,6±18,3	291,0±33,6	1,75±0,19
STZ+PCA	224,3±54,4	308,6±60,6	1,60±0,24
STZ+CO	244,0±14,4	285,6±50,7	1,58±0,12
PCA	239,0±33,4	347,8±83,1	1,55±0,15
CO	238,1±34,3	271,6±28,5	1,15±0,09
Kont	227,0±20,0	281,5±14,6	1,37±0,10
P<0.05	0,707	0,426	0,000

Tablo 4.1. STZ, STZ+PCA, STZ+CO, PCA, CO ve kontrol grubuna ait deneklerin deney öncesi ve deney sonrası vücut ağırlıkları ve sağ testis ağırlıklarının mean ve sd değerleri.

STZ, STZ+PCA, STZ+CO, PCA, CO ve Kontrol grubuna ait deney öncesi ve deney sonrası vücut ağırlıkları incelendiğinde, tüm gruplarda vücut ağırlıklarında artış gözlemlendi. Ancak gruplar arası anlamlı fark tespit edilmedi ($p>0.05$). Deney sonucunda en yüksek vücut ağırlığına sahip grup 347,8±83,1 değeri ile PCA grubudur. PCA grubundaki deneklerin deney sonrası vücut ağırlığının birbirleriyle yakın değerlerde olmadığı ve heterojen bir dağılım gösterdiği anlaşılmaktadır. Deney sonrası standart sapma (std) değerinin en düşük olduğu CO grubu olup, bu grupta yer alan deneklerin vücut ağırlıklarının birbirleriyle yakın değerlerde olduğu, önemli derecede bir sapma olmadığı, grubun homojen yapıda olduğunu belirlendi.

STZ, STZ+PCA, STZ+CO, PCA, CO ve Kontrol gruplarının deney sonucunda testis ağırlıkları incelendiği zaman std'nin en yüksek olduğu grup olarak

1,75±0,19 ile STZ grubu olurken, std'nin en düşük olduğu grup ise 1,15±0,09 değeri ile CO grubudur. Testis p değerleri incelendiğinde kontrol ile PCA grubu arası p değerinin 0,029 olduğunu ve bu iki grup arası testis ağırlıklarında bir fark olduğu görüldü. Ayrıca, STZ ile CO, STZ+PCA ile CO, STZ+CO ile CO, CO ile PCA, CO ile kontrol, STZ+CO ile kontrol grupları arası p değerlerinin 0,004 olduğu dolayısıyla bu gruplar arası testis ağırlıklarının birbirlerinden önemli derecede farklı olduğu anlaşıldı.

Med(min-max)	Deney Öncesi Vücut Ağırlıkları	Deney Sonrası Vücut Ağırlıkları
STZ	239,0 (226,0-268,0)	284,0(242,0/340,0)
STZ+PCA	230,0 (152,0-294,0)	307,0(222,0/386,0)
STZ+CO	246,0 (224,0-264,0)	286,0(222,0/350,0)
CO	226,5 (204,0-280,0)	275,0(240,0/300,0)
Kont	219,0 (212,0-266,0)	278,0(260,0/300,0)
PCA	245,0 (180,0-280,0)	346,0(240,0/464,0)

Tablo 4.2. Deneklerin deney öncesi ve deney sonrası vücut ağırlıklarının Median değerleri

Med(min-max)	Sağ Testis Ağırlıkları
STZ	1,68(1,57-2,01)
STZ+PCA	1,62(1,33-1,87)
STZ+CO	1,58(1,36-1,73)
CO	1,17(1,00-1,26)
Kont	1,37(1,23-1,50)
PCA	1,51(1,35-1,77)

Tablo 4.3. Deneklerin deney sonu sağ testis ağırlıklarının median değerleri

	Deney Öncesi Vücut Ağırlığı P değerleri	Deney Sonrası Vücut Ağırlığı p değerleri	Testis Ağırlığı p değerleri
Kontrol ile PCA	0,229	0,173	0,029
STZ ile STZ+PCA	0,630	0,63	0,337
STZ+CO ile PCA	0,936	0,128	0,521
STZ ile PCA	0,810	0,262	0,078
STZ ile CO	0,630	0,422	0,004
STZ+PCA ile CO	0,748	0,148	0,004
STZ+CO ile CO	0,521	0,872	0,004

CO ile PCA	0,747	0,106	0,004
CO ile Kontrol	0,936	0,686	0,008
STZ+PCA ile PCA	0,522	0,423	0,872
STZ ile STZ+CO	0,873	0,749	0,092
STZ ile Kontrol	0,092	0,378	0,004
STZ+PCA ile Kontrol	0,631	0,262	0,128
STZ+CO ile Kontrol	0,078	0,944	0,016
STZ+CO ile STZ+PCA	0,470	0,631	0,873

Tablo 4.4. Deney önce ve sonrası tüm grupların p değerlerinin birbirleri ile karşılaştırılması. $p < 0.05$

4.3. Deney Öncesi ve Sonrası Kan Glukoz Düzeyleri

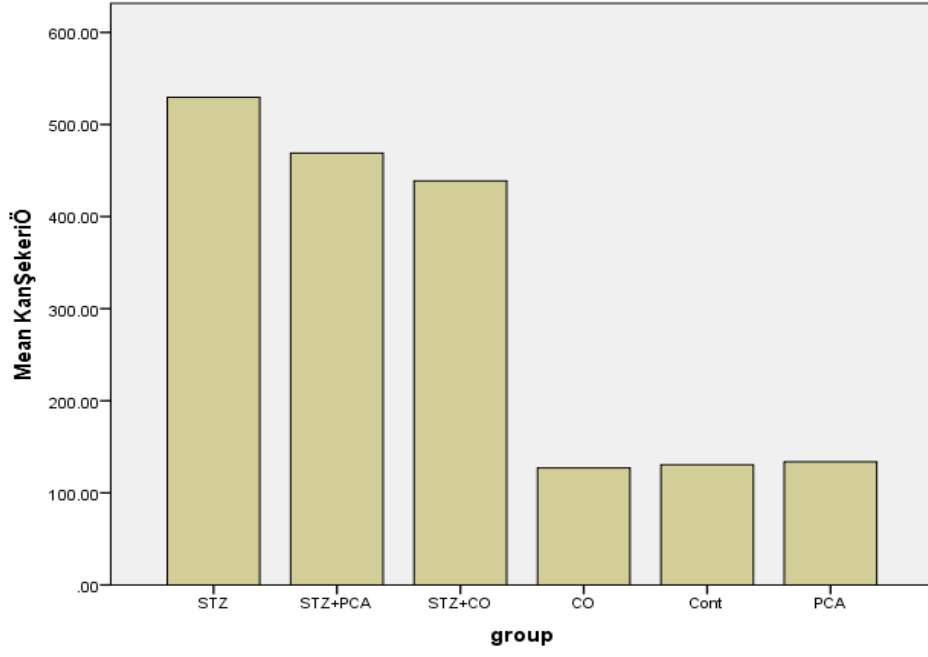
STZ, STZ+PCA, STZ+CO gruplarına yapılan STZ enjeksiyonundan 2 gün sonra tüm gruplardaki deneklerin kuyruk kanında glukometre ile yapılan ölçüm sonrasında glukoz değeri 250mg/dL ve üzeri olan ratlar diyabet kabul edilmiştir. Tablo 4.5’de kan glukoz seviyelerinin mean, standar sapma ve p değerleri gösterilmiştir.

Mean±SD	Deney Öncesi	Deney Sonrası	p value
STZ	529,50±60,39	419,00±165,08	0,394
STZ+PCA	469,00±127,12	209,00±68,36	0,002***
STZ+CO	438,83±106,25	297,83±84,37	0,041**
PCA	135,50±41,72	138,83±18,71	0,240
CO	127,17±13,70	142,67±19,71	0,180
Kontrol	130,50±35,47	129,83±13,61	0,485

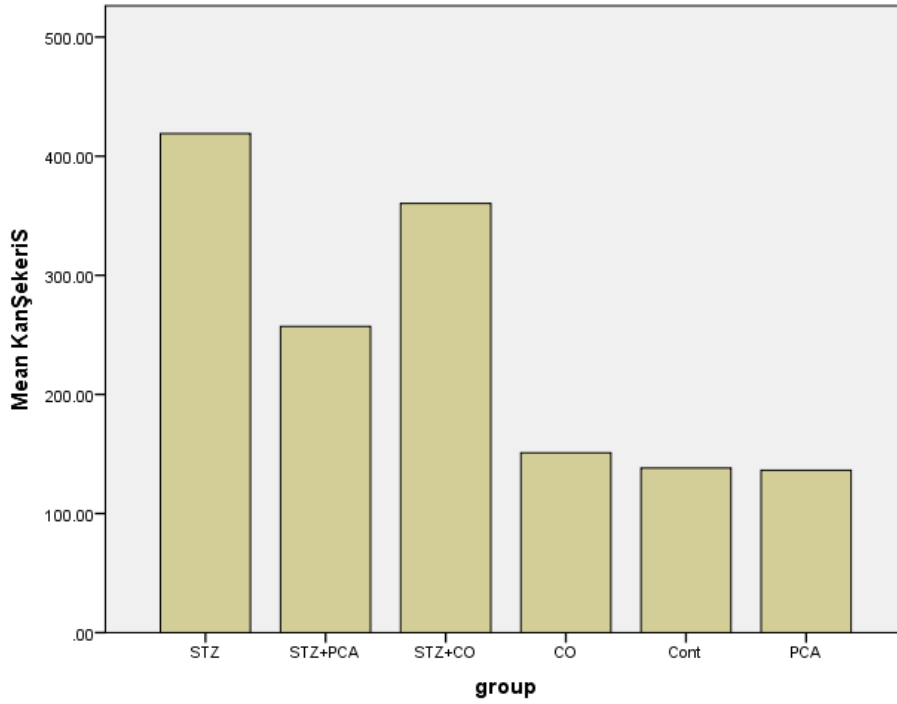
Tablo 4.5. Deneklerin deney öncesi ve sonrası kan glukoz düzeyleri (mg/dL).

* Mann-Whitney U Test'ine göre gruplar arası anlamlılık gösterilmektedir.

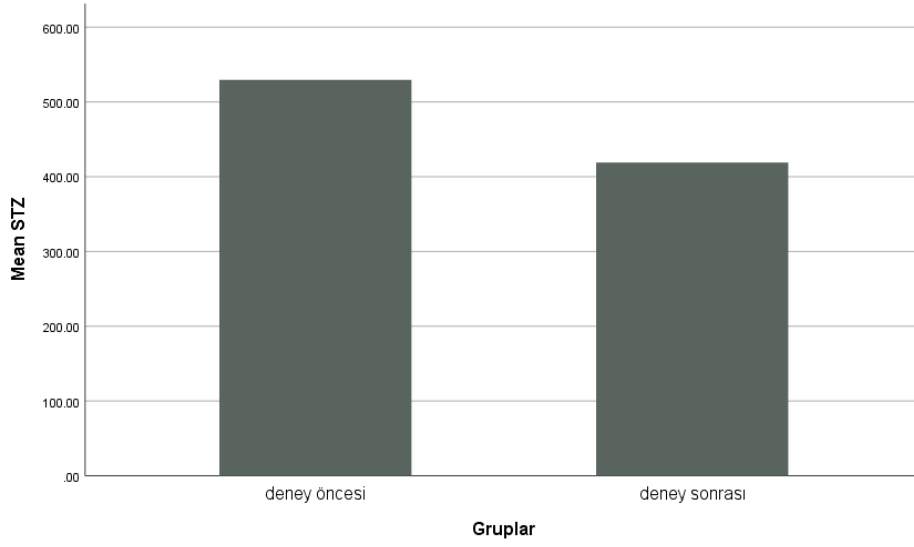
Deney öncesi STZ injeksiyonu yapılan deneklerin kan glukoz seviyelerinin 250mg/dL'nin çok üstünde olduğu görüldü. Kontrol, sadece PCA ve sadece CO verilen gruplarda glukoz değerleri normal sınırlarda bulundu. Deney süresi sonunda STZ ile diyabet oluşturulan ve herhangi bir tedavi uygulanmayan grupta glukoz düzeyleri yüksekliğini korumaktaydı. Bu nedenle değerler arası anlamlılık saptanmadı. STZ +PCA ve STZ + CO ile tedavi edilen gruplarda glukoz değerlerinin istatistiksel olarak anlamlı azaldığı saptandı. Azalmanın PCA ile tedavi edilen grupta CO ile tedavi edilen diyabetik gruba göre daha fazla olduğu tanımlandı. Kontrol, PCA ve CO verilen grupların glukoz değerleri deney öncesi değerlerine benzemektedir (Tablo 4.5). Deneklerin deney öncesi ve deney sonrası kan glukoz seviyelerinin mean değerleri Şekil 4.1 ve Şekil 4.2'de gösterilmiştir. Gruplara ait glukoz düzeylerinin grafikleri Şekil 4.3, Şekil 4.4, Şekil 4.5, Şekil 4.6, Şekil 4.7, Şekil 4.8'de gösterilmiştir.



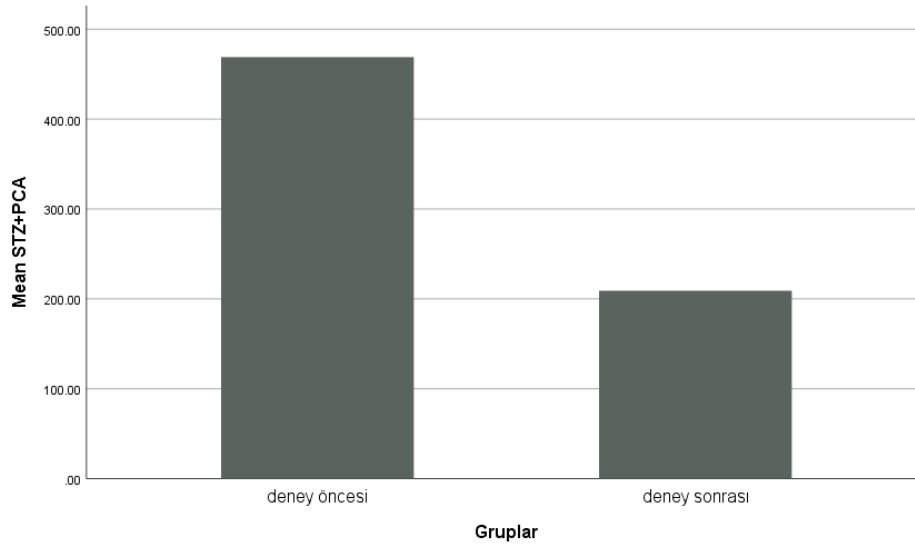
Şekil 4.1. Deneklerin deney öncesi kan glukoz seviyelerinin mean değerleri



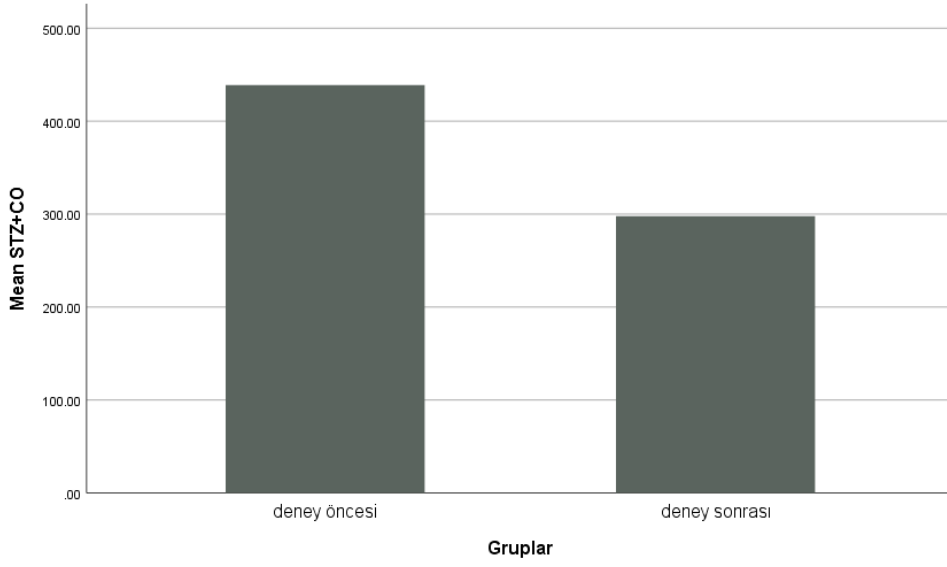
Şekil 4.2. Deneklerin deney sonrası kan şekerlerinin mean değerleri.



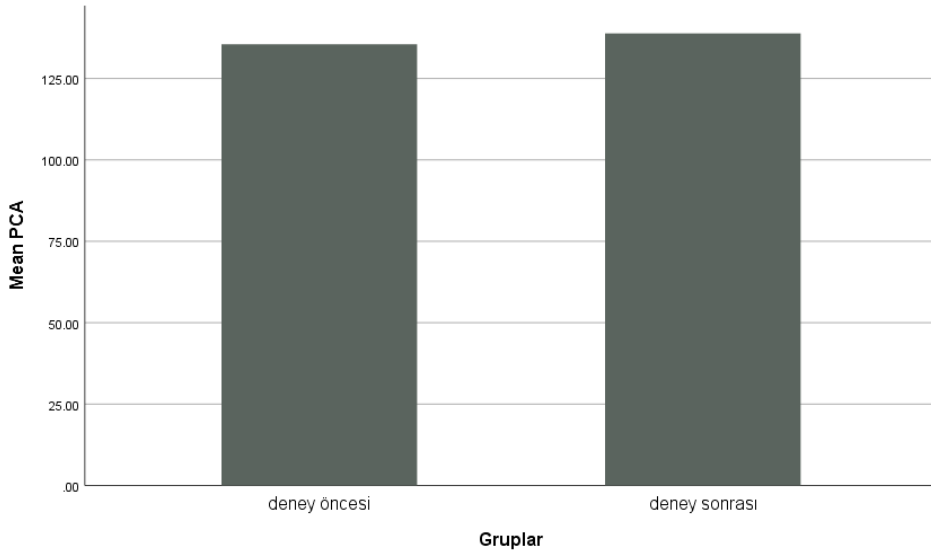
Şekil 4.3. Deney öncesi ve sonrası STZ grubunun kan glukoz değerleri



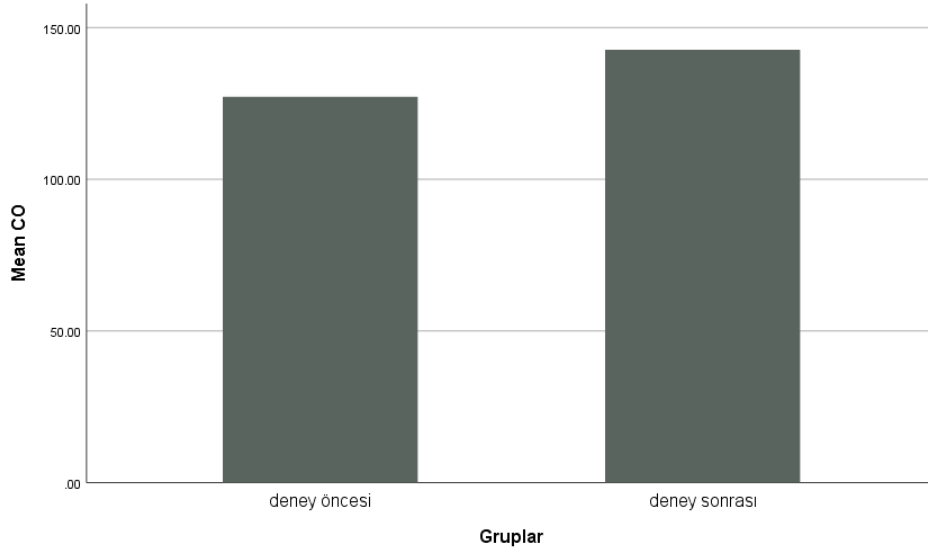
Şekil 4.4. Deney öncesi ve sonrası STZ + PCA grubunun kan glukoz değerleri



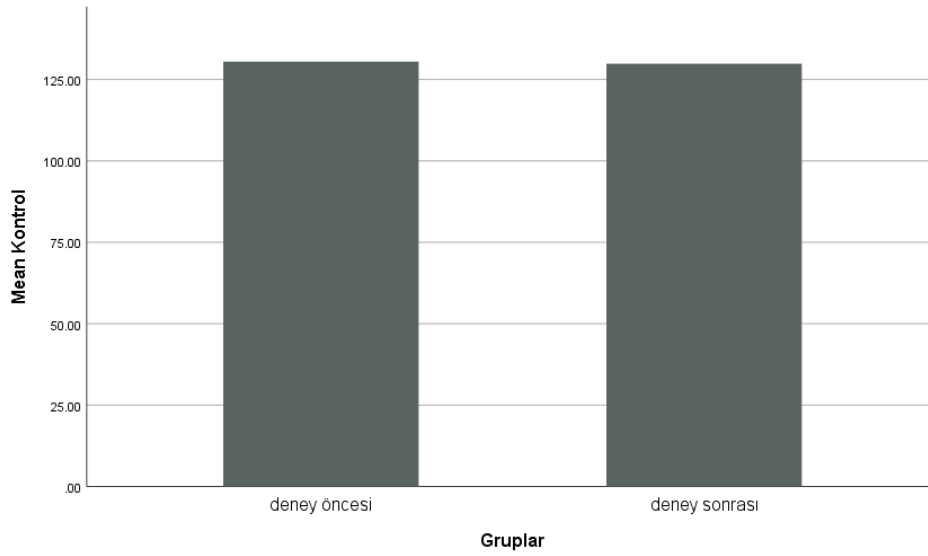
Şekil 4.5. Deney öncesi ve sonrası STZ + CO grubunun kan glukoz değerleri



Şekil 4.6. Deney öncesi ve sonrası PCA grubunun kan glukoz değerleri



Şekil 4.7. Deney öncesi ve sonrası CO grubunun kan glukoz değerleri



Şekil 4.8. Deney öncesi ve sonrası Kontrol grubunun kan glukoz değerleri

4.4. TUNEL Boyaması

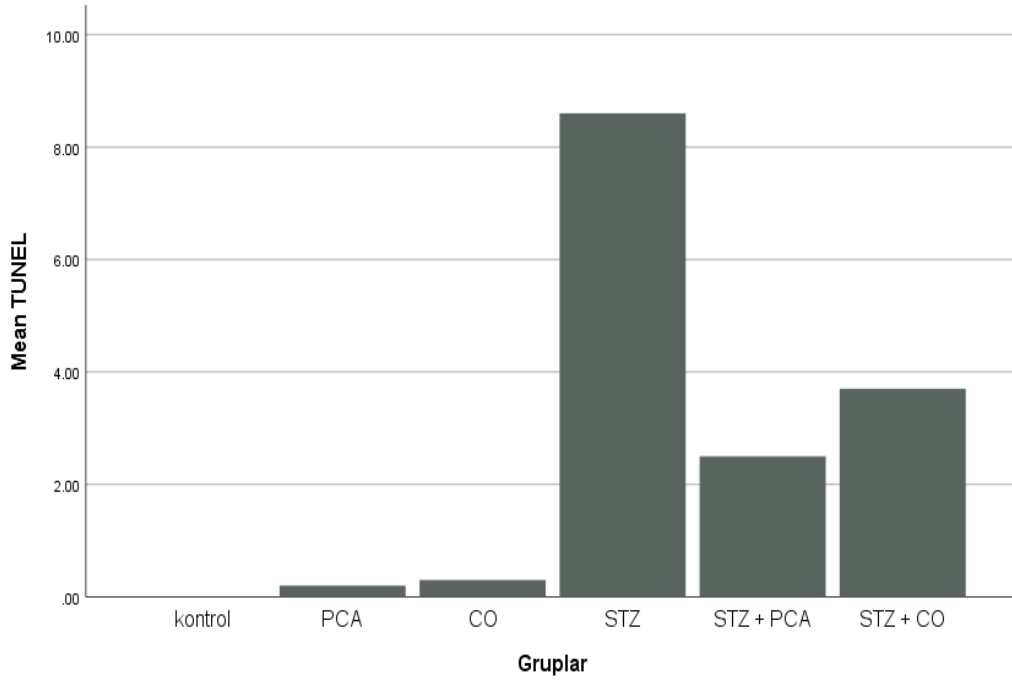
Mean±SD	Kontrol	PCA	CO	STZ	STZ+PCA	STZ+CO	p value
TUNEL	0,00±0,00 ^{abc}	0,20±0,42 ^{def}	0,30±0,48 ^{ghi}	8,60±3,03 ^{adg}	2,50±2,37 ^{beh}	3,70±3,23 ^{cfi}	0,000 ***

Tablo 4.6. Gruplarada TUNEL (+) boyanmış apoptotik hücre sayıları

* Kruskal-Wallis Test'ine göre gruplar arası anlamlılık gösterilmektedir.

^{abcd} Mann-Whitney U Test'ine göre grupların birbirleri ile olan karşılaştırması sonucu istatistiksel anlamlılık belirtilmiştir (anlamlılık değeri p<0,05'tir);
^a : Kontrol ve STZ grupları arası anlamlılık
^b : Kontrol ve STZ+PCA grupları arası anlamlılık
^c : Kontrol ve STZ+CO grupları arası anlamlılık
^d : PCA ve STZ grupları arası anlamlılık
^e : PCA ve STZ+PCA grupları arası anlamlılık
^f : PCA ve STZ+CO grupları arası anlamlılık
^g : CO ve STZ grupları arası anlamlılık
^h : CO ve STZ+PCA grupları arası anlamlılık
ⁱ : CO ve STZ+CO grupları arası anlamlılık

Kontrol, sadece PCA ve sadece CO verilen gruplarda TUNEL (+) boyanan apoptotik hücre sayısını çok düşük olduğu kontrol grubunda neredeyse hiç olmadığı görüldü. STZ verilen ve tedavi edilmeyen grupta koyu boyanmış TUNEL (+) hücre sayısının arttığı, PCA ve CO ile tedavi edilen gruplarda anlamlı azaldığı tespit edildi. STZ +PCA grubunda azalmanın CO'lu gruba göre daha fazla olmasına rağmen tedavi grupları arasında anlamlılık bulunmadı (Tablo 4.6). TUNEL (+) boyanmış hücre sayıları Şekil 4.9'da gösterilmiştir.

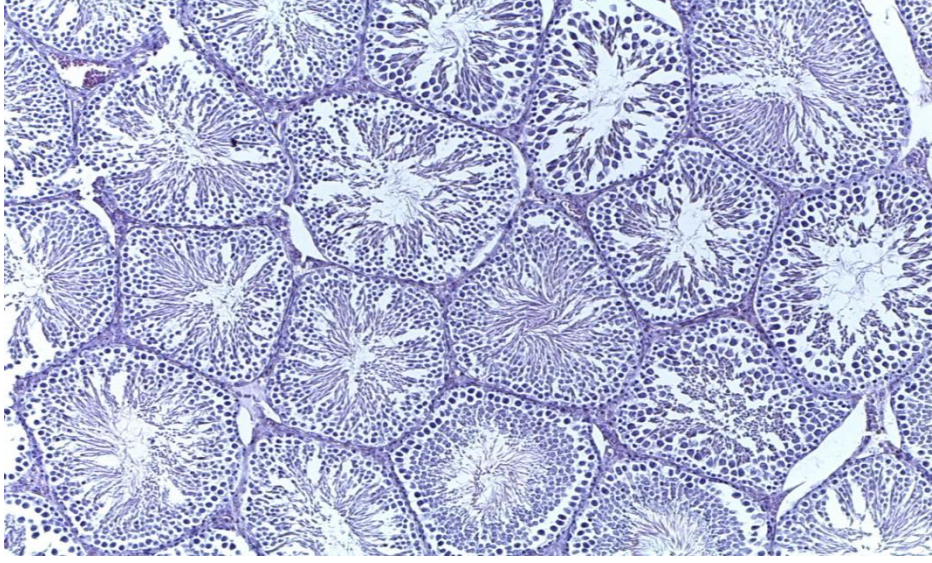


Şekil 4.9. Deney gruplarında TUNEL (+) hücrelerin dağılımı.

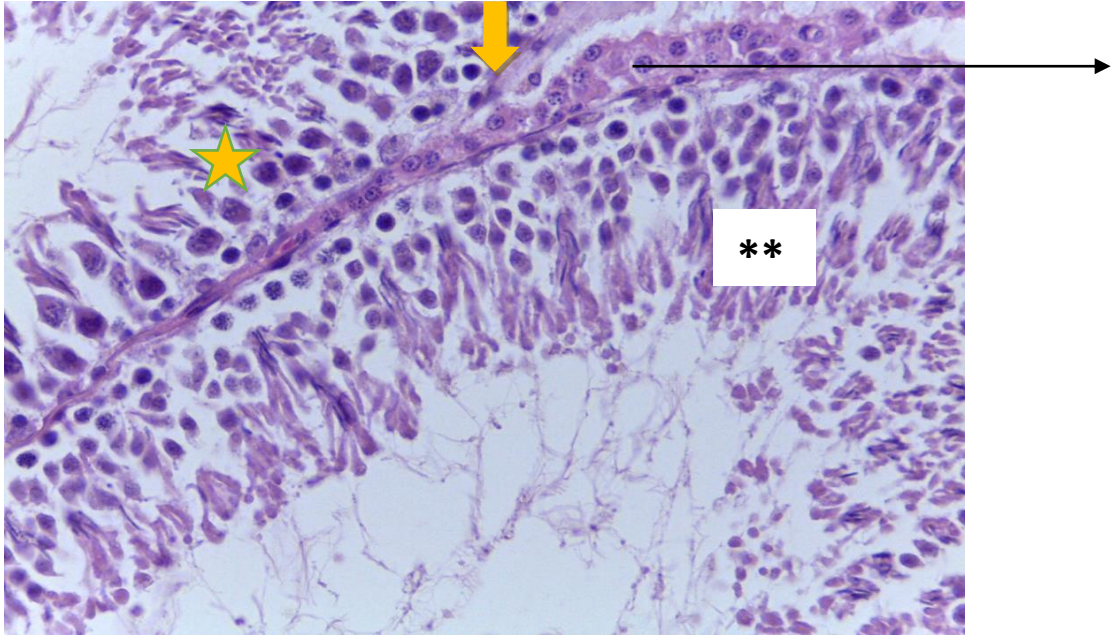
4.5. Işık Mikroskopik Bulgular

Işık mikroskopik incelemede kontrol grubuna ait testis dokularının (Şekil 4.10) ve spermatogenetik hücrelerin, sertoli, ve Leydig hücrelerinin normal görünümde olduğu gözlemlendi (Şekil 4.11). CO (Şekil 4.12) ve PCA (Şekil 4.13) verilen grupların testis dokuları kontrol grubuna benzemektedir. PAS boyaması ile değerlendirilen seminifer tübül bazal membran yapılarının kontrol (Şekil 4.14), PCA (Şekil 4.15) ve CO (Şekil 4.16) gruplarında benzerlik gösterdiği tespit edildi. STZ ile diyabet oluşturulan grupta bazı seminifer tübül yapılarının dejenere olduğu, spermatogenetik hücrelerin azaldığı (Şekil 4.17), lümeninde multiveziküler cisimciklerin olduğu (Şekil 4.18), bazı tübüllerin lümeninde çok sayıda dökülmüş hücreler (Şekil 4.19) gözlemlendi.

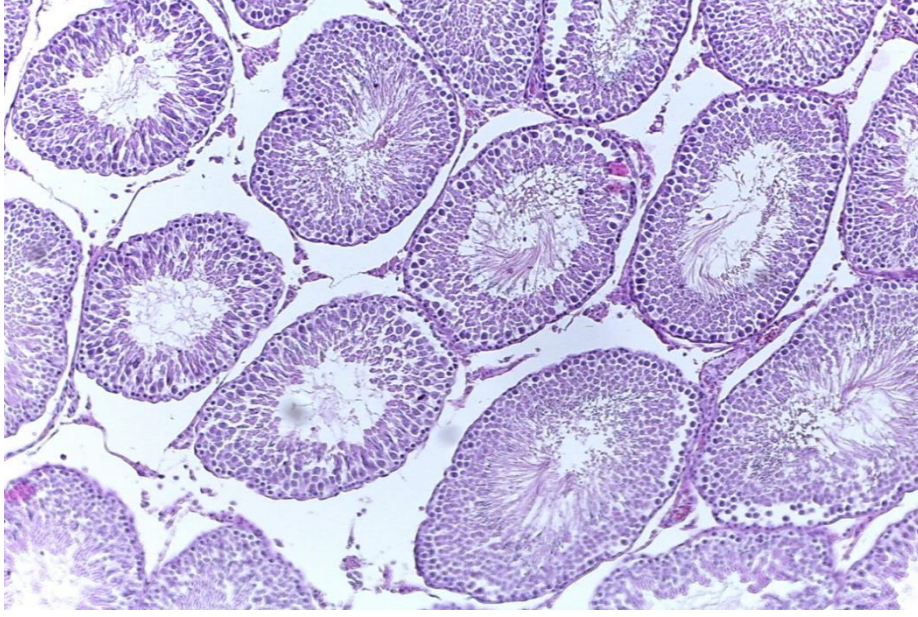
Seminifer tübül içinde belirgin vakuolizasyon, bazal kompartman ile adluminal kompartmanın ayrıldığı alanlar (Şekil 4.20), intertisyal alanda belirgin sıvı birikimi (Şekil 4.21) görüldü. Diyabet oluşturulup PCA (Şekil 4.22) ve CO (Şekil 4.23) ile tedavi edilen gruplarda testis dokusu kontrol grubuna benzemektedir. Diyabet grubunda gözlenen dejenere tübül yapıları, hücre döküntüleri bu gruplarda gözlenmedi. PCA ve CO ile tedavi edilen gruplarda intertisyal dokuda bağ doku artışı izlenmedi (Şekil 4.24, Şekil 4.25). Diyabetik grup (Şekil 4.26), PCA ile tedavi edilen grup (Şekil 4.27) ve CO ile tedavi edilen grup (Şekil 4.28) seminifer tübül bazal membran yapıları birbirlerine ve kontrol grubuna benzemektedir. Diyabetik grupta bazal membran kalınlaşması görülmedi. Apoptotik hücre incelemek için yapılan TUNEL boyamasında kontrol grubunda boyanmış hücre izlenmezken, sadece PCA ve sadece CO verilen gruplarda TUNEL (+) boyanmış 1-2 hücre tespit edildi (Şekil 4.29). Diyabetik grupta apoptotik hücre sayısının artmış olduğu (Şekil 4.30), PCA (Şekil 4.31) ve CO (Şekil 4.32) ile tedavi edilen gruplarda daha az sayıda olduğu, CO verilen grupta TUNEL (+) boyanmış hücrelerin PCA ile tedavi edilen gruba göre daha fazla olduğu görüldü.



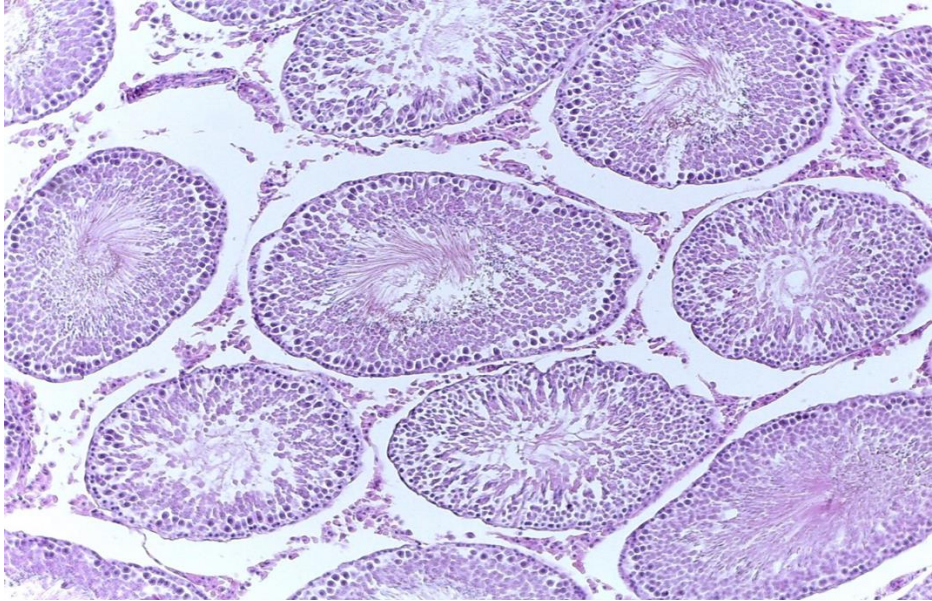
Şekil 4.10. Kontrol testis dokusunda seminifer tübüller normal yapıda görülmektedir.



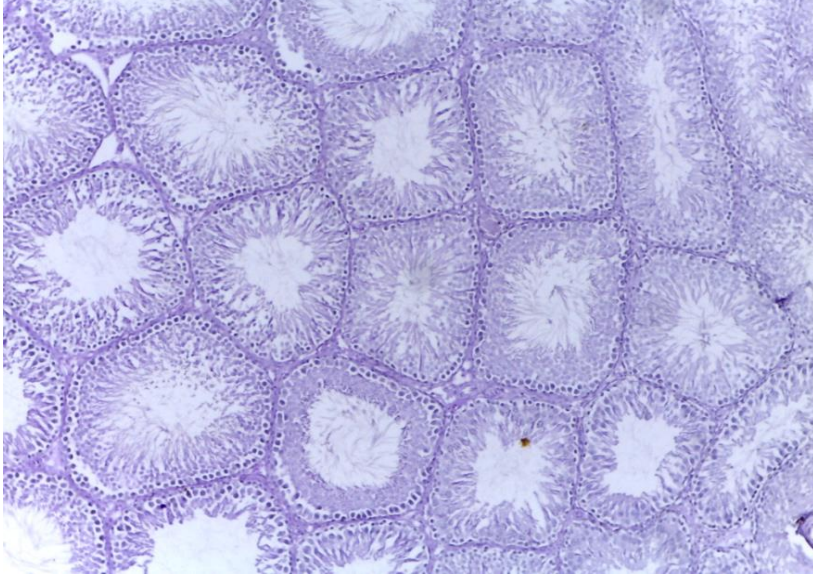
Şekil 4.11. Kontrol testis dokusunda intertisyel aralıkta Leydig hücreleri (ok), tübül içinde Sertoli hücreleri (ok başı) ve primer spermatozit (*), erken spermatitler (**) görülmektedir. HE x40.



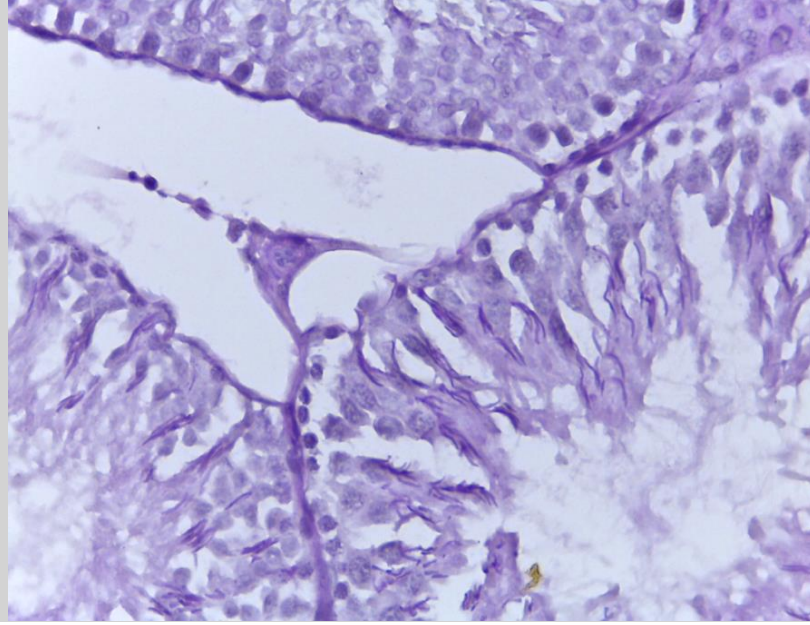
Şekil 4.12. Sadece CO verilen grupta seminifer tübül yapıları kontrol grubuna benzemektedir. HE x10.



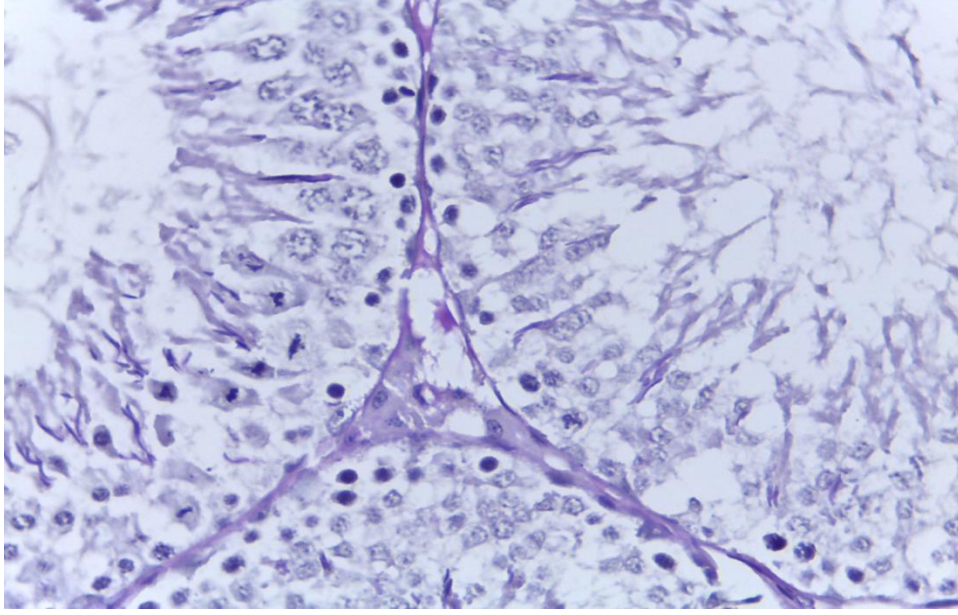
Şekil 4.13. Sadece PCA verilen grupta testis dokusu kontrole ve CO verilen gruba benzemektedir. HE x10.



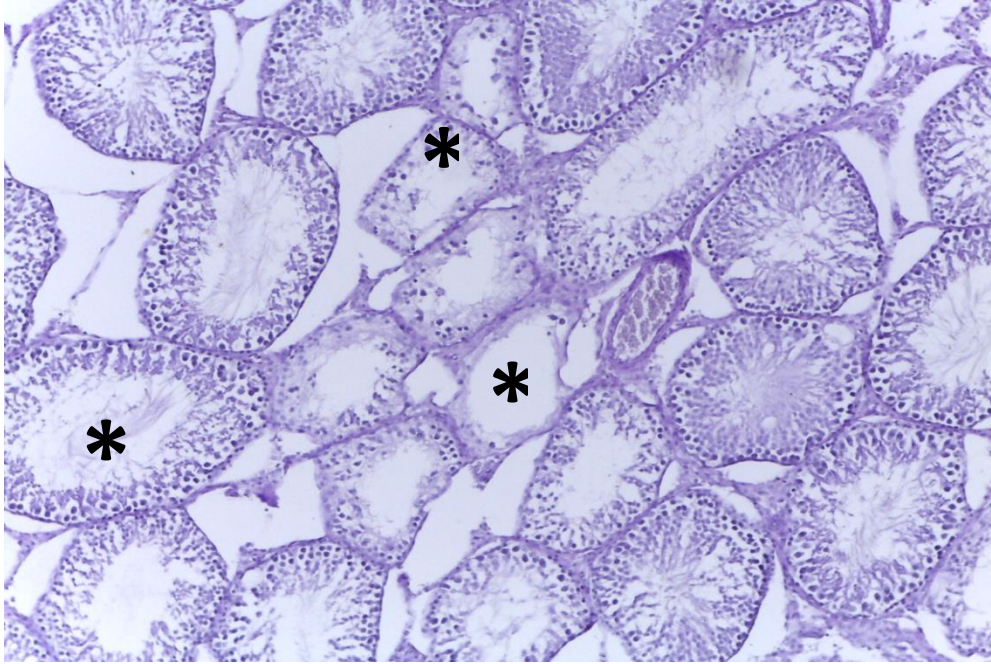
Şekil 4.14. Kontrol grubu testis seminifer tübüllerin bazal membran yapısı görülmekte. PAS x10.



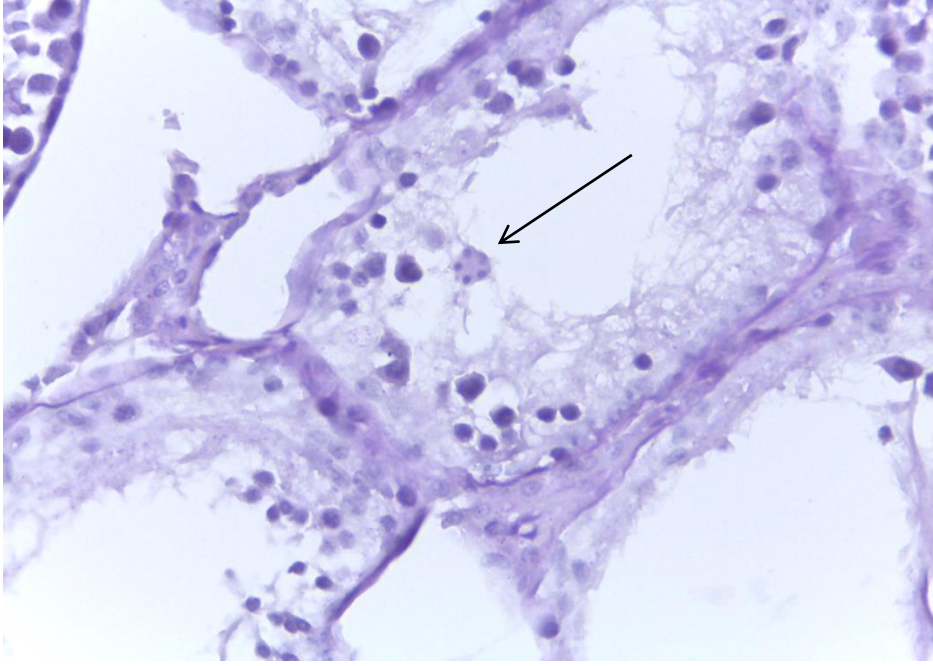
Şekil 4.15. Sadece CO verilen grupta bazal membran yapısı görülmektedir. PAS x40.



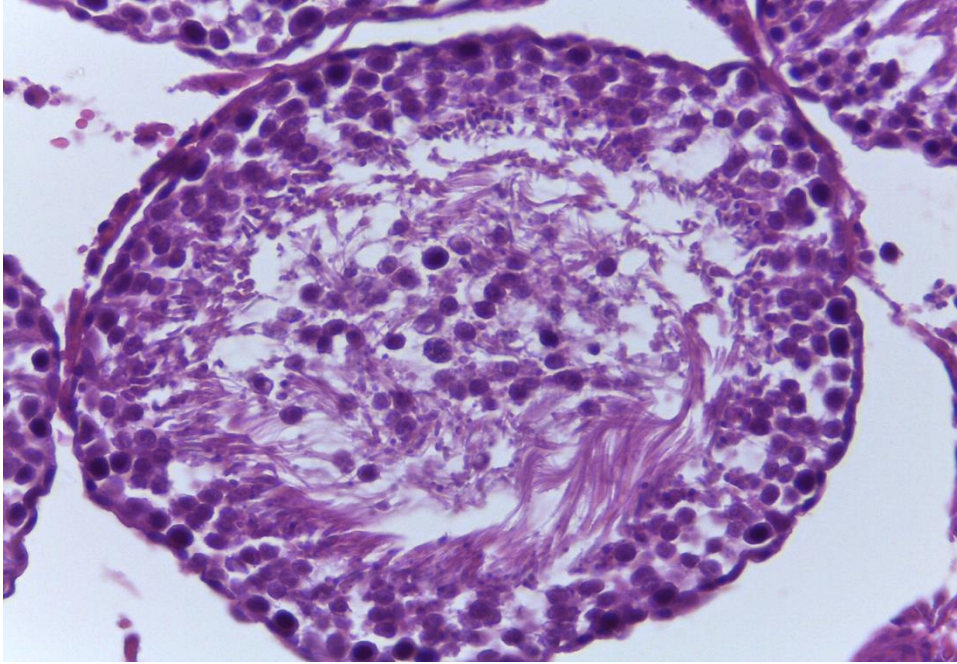
Şekil 4.16. Sadece PCA verilen grupta bazal membran yapısı görülmektedir. PAS x40.



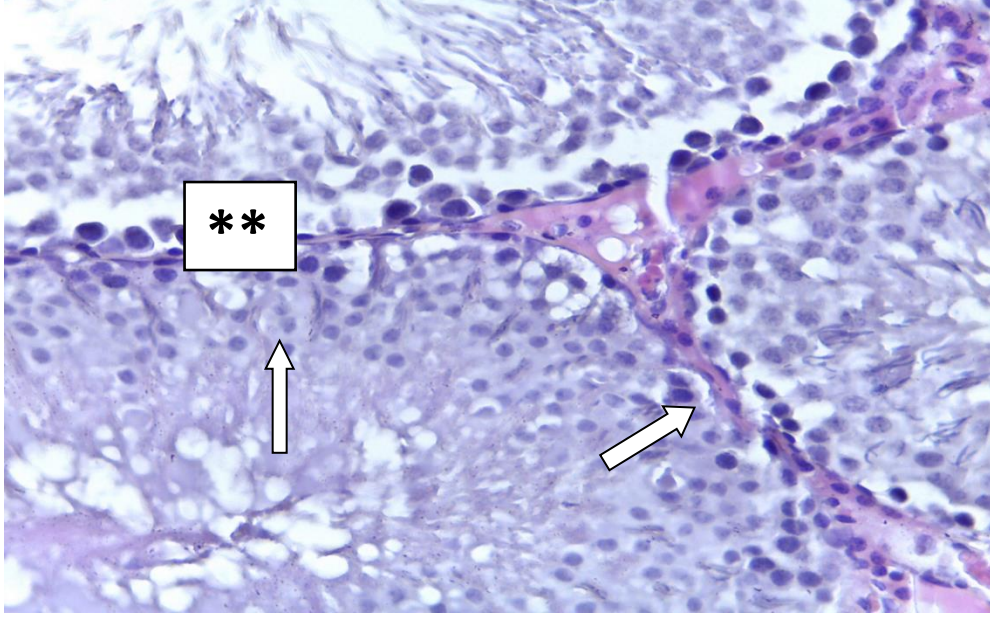
Şekil 4.17. Diyabetik gruba ait testis dokusundaki seminifer tübüllerinin bir kısmının dejenere olduğu, spermatogenetik hücrelerin bozulduğu ve sayıca azaldığı (*) görülmektedir. PAS x10



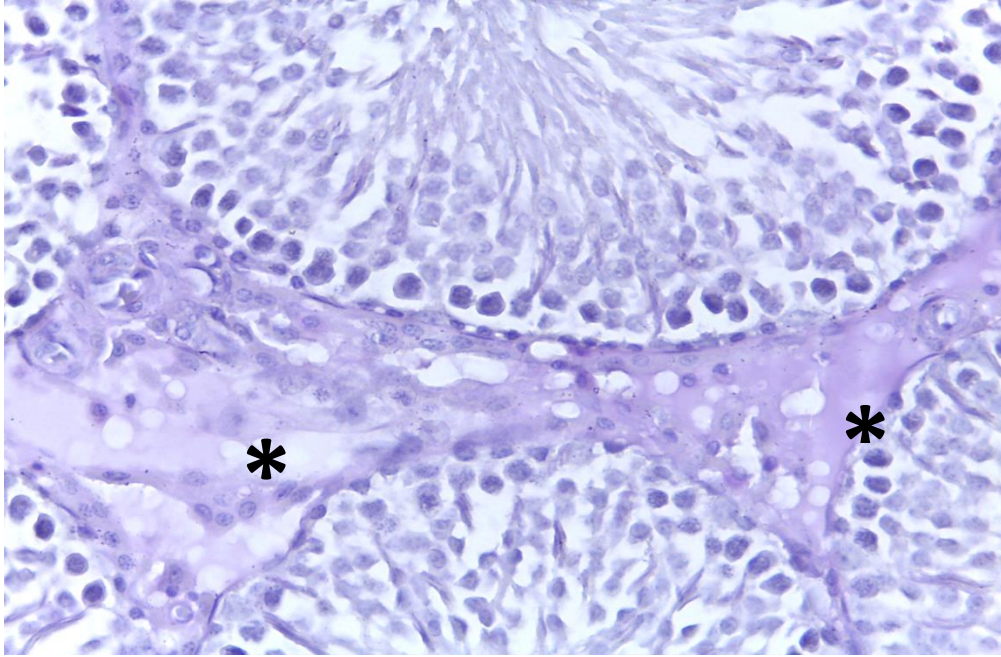
Şekil 4.18. Diyabet grubunda yapısı bozulmuş seminifer tübüller ve multiveziküler hücreler (ok) görülmektedir. PAS x40.



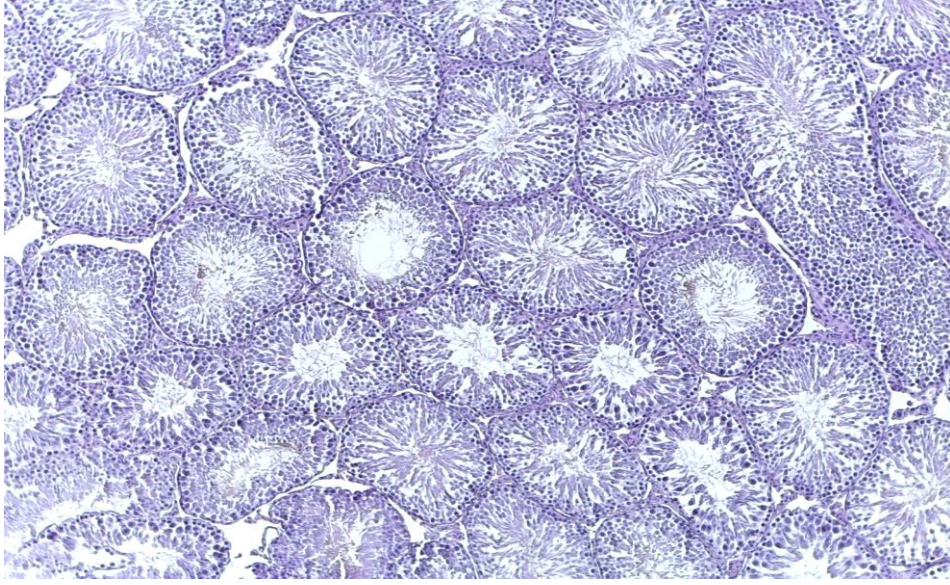
Şekil 4.19. Diyabetik grupta seminifer tübül lümeninde dökülmüş hücre toplulukları görülmekte. HE x40.



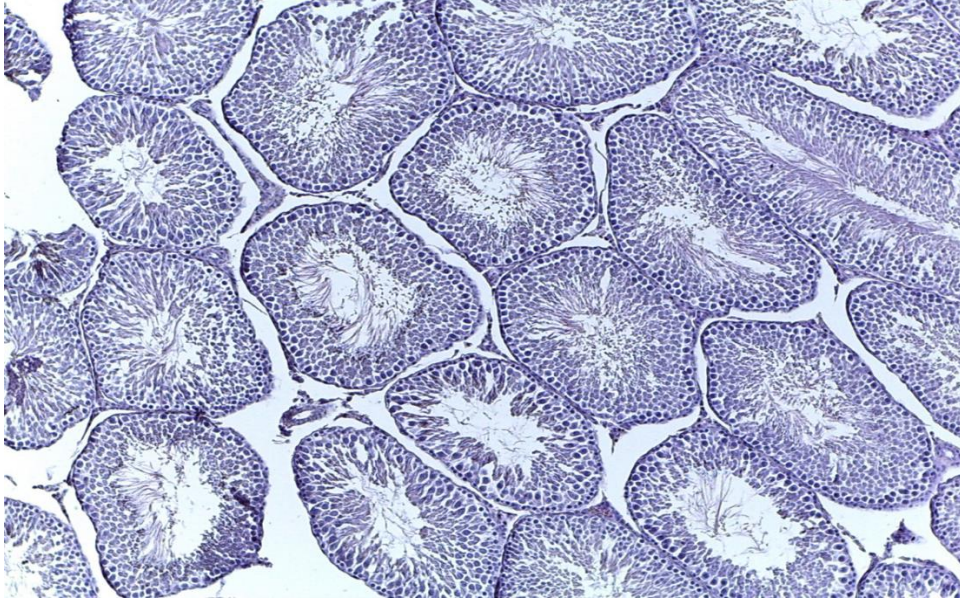
Şekil 4.20. STZ ile diyabet yapılan grup seminifer tübüllerinde belirgin vakuolizasyon (oklar), bazal kompartman ile adluminal kompartmanın ayrıldığı alanlar (**) görülmektedir. HEx40



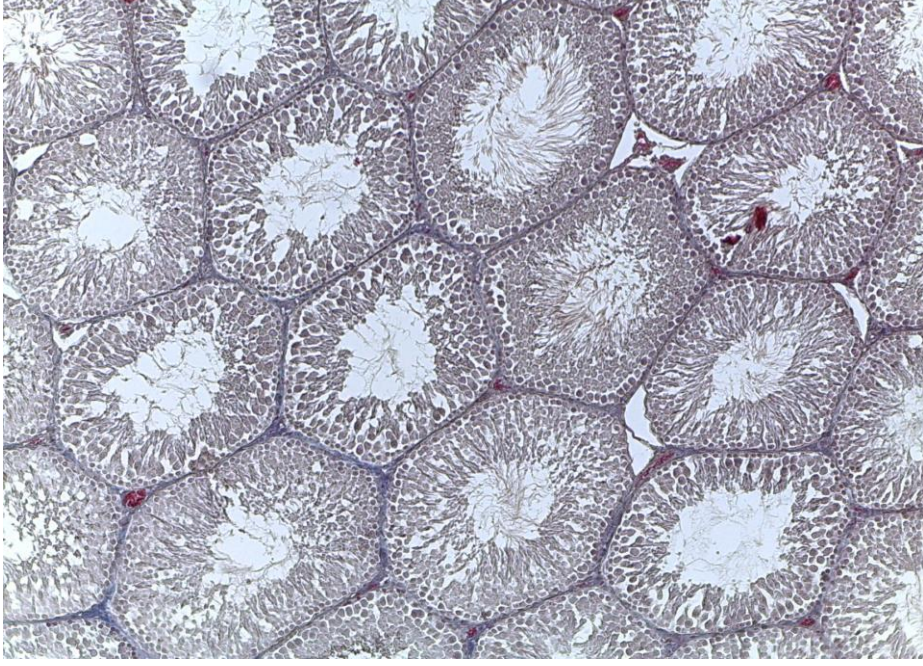
Şekil 4.21. Diyabetik grup testislerinde intertisyal aralıklarda belirgin sıvı birikimi (*) gözlenmektedir. PAS x40.



Şekil 4.22. Diyabet+PCA verilen gruba ait testis dokusunda seminifer tübüllerin düzgün olduğu görülmektedir. HE x10.



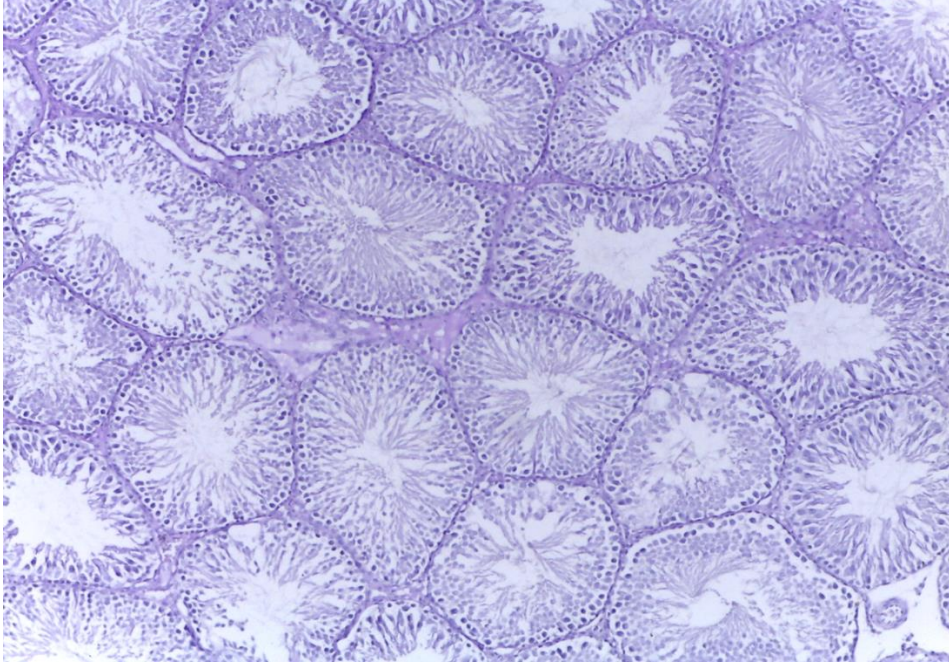
Şekil 4.23 Diyabet oluşturulup CO verilen gruba ait testis dokusu Diyabet+PCA grubuna benzemektedir. HE x10.



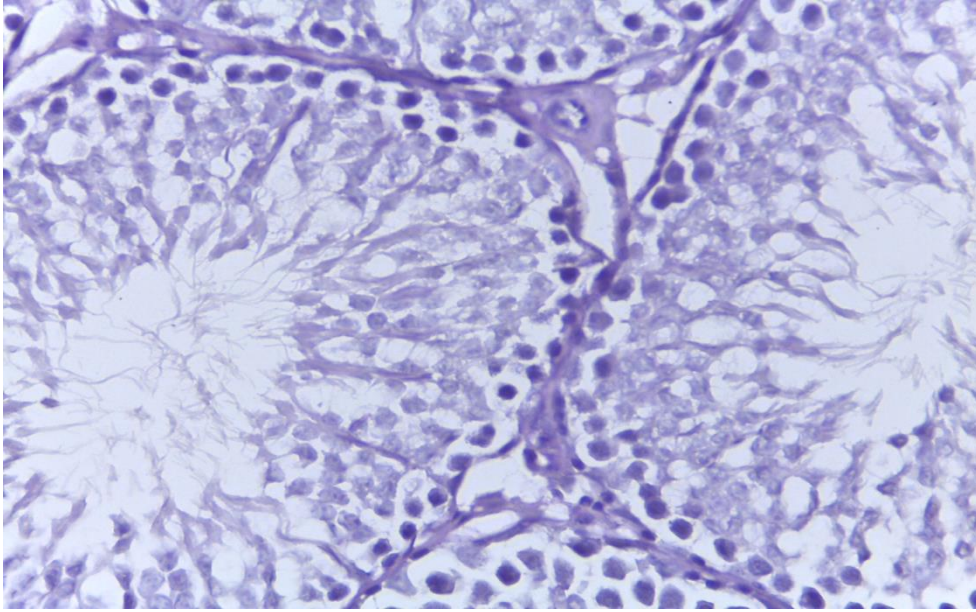
Şekil 4.24. Diyabet+PCA verilen grupta seminifer tübüller arası bağ doku artışının olmadığı görülmektedir. Masson Trikrom boyama x10.



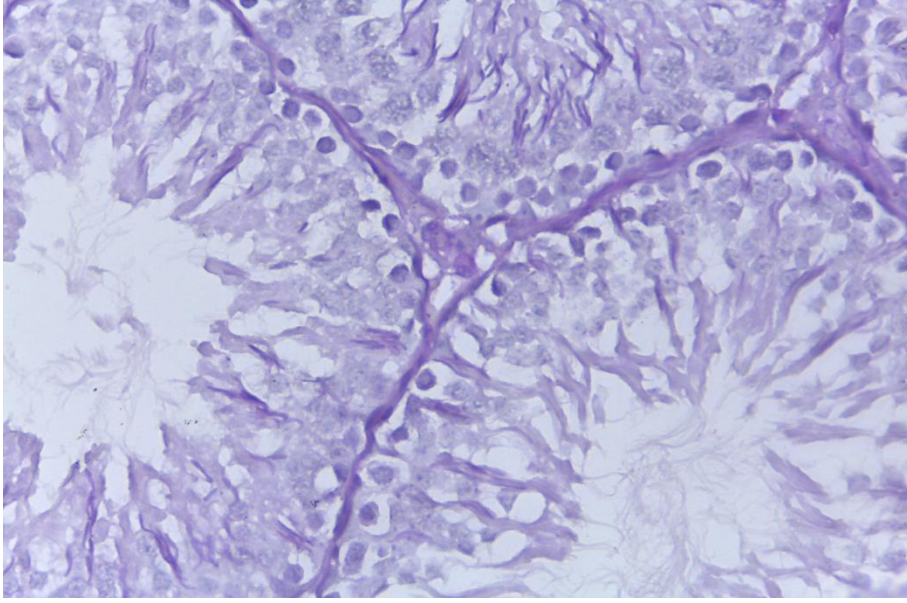
Şekil 4.25. Diyabet+CO grubuna ait testis dokusunda ara bağ doku artışı görülmemektedir. Masson Trikrom boyama x10.



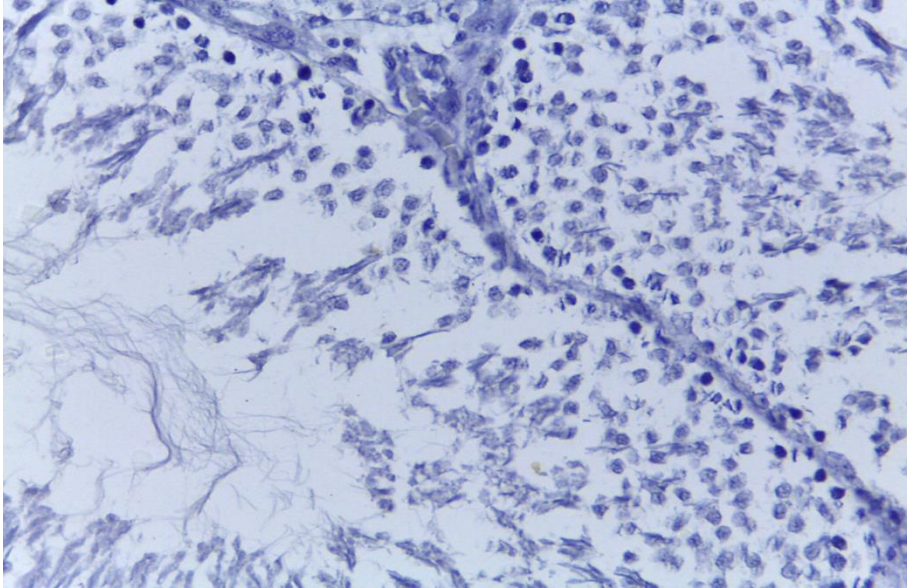
Şekil 4.26. Diyabetik testis dokusunda seminifer tübüllerin bazal membran kalınlığının kontrol grubuna benzediği görülmektedir. PAS x10.



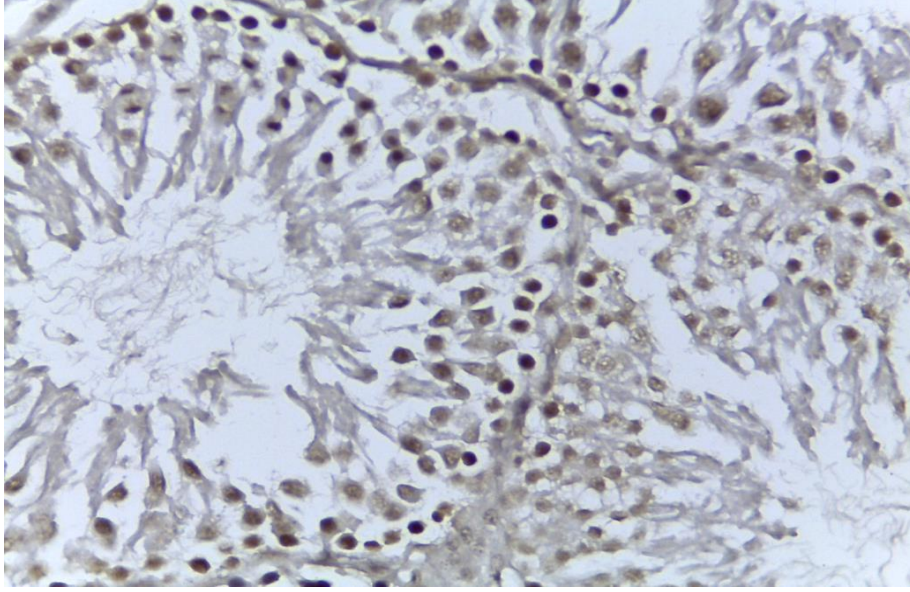
Şekil 4.27. Diyabet+PCA verilen grupta bazal membran yapısı görülmekte. PAS x40



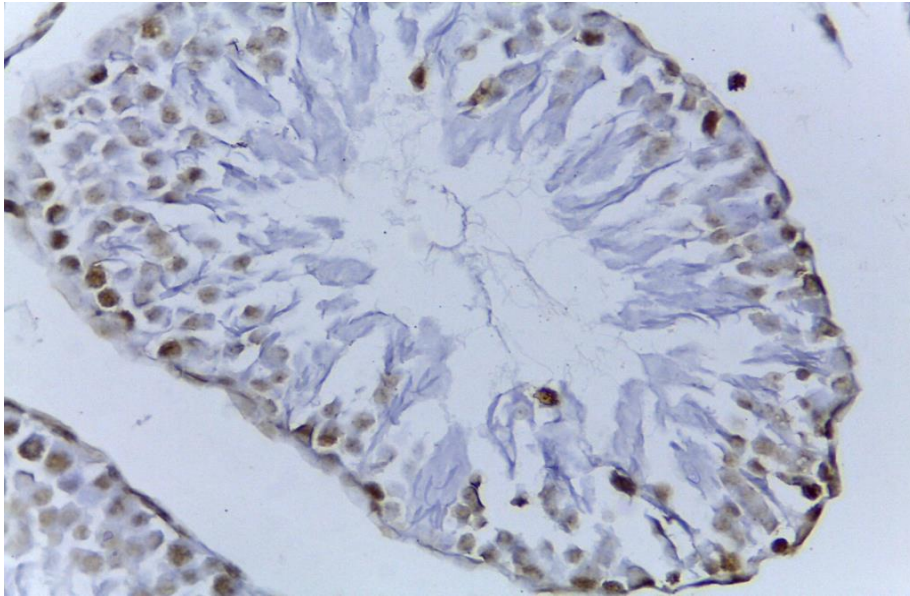
Şekil 4.28. Diyabet+CO verilen grupta bazal membran yapısı görülmektedir. PAS x40.



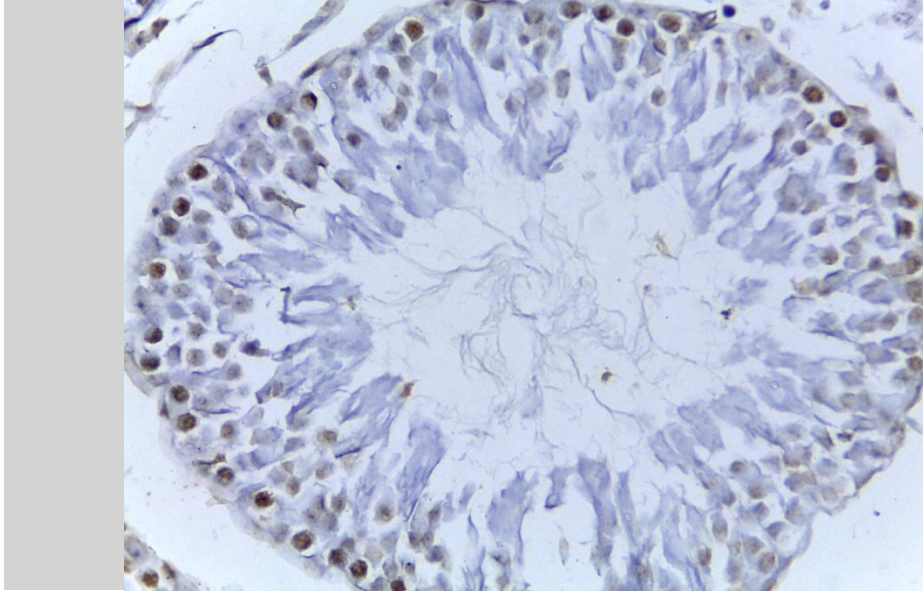
Şekil 4.29. Kontrol grubunda seminifer tübüllerde TUNEL (+) boyanan hücre görülmemektedir. TUNEL boyama x40.



Şekil 4.30. Diyabetik grupta TUNEL (+) apoptotik hücreler görülmektedir. TUNEL boyama x40.



Şekil 4.31. Diyabet+PCA verilen grupta TUNEL (+) apoptotik hücreler görülmektedir. TUNEL boyama x40.



Şekil 4.32. Diyabet+CO verilen grupta TUNEL (+) boyanmış spermatogenetik hücreler görülmektedir. TUNEL boyama x40.

5.TARTIŞMA

Görülme sıklığı gün geçtikçe artan ve birçok hastalıklarlada ilişkili olup yeni komplikasyonlara neden olan diyabet hastalığını daha iyi anlamak ve etkili tedavi yöntemleri bulmak için birçok çalışma yapılmaktadır. Diabetes Mellitus'un erkek genital sistemi üzerindeki etkisini araştırmak, oluşan hasarın önlenmesi için deneysel diyabet oluşturulan deney hayvanlarında ve diyabetli erkek hastalarda testisler histolojik, morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal olarak incelenmektedir. Diyabete bağlı testis seminifer tübüllerinde dejenerasyon, apoptozis, testesteron üretiminde azalma, bazal membranda kalınlaşma olduğu bildirilmiştir (Jangir ve ark., 2014; Köroğlu, 2019; Alves ve ark., 2013; Dinulovic ve Radonjic, 1990; Gobbo

ve ark.,2015). Bazı çalışmalar DM insidansındaki artışla doğurganlık oranındaki azalmayı ve erkeklerdeki kısırlık oranının artışını bağdaştırmaktadır (Marco ve ark.,2013).

Diyabetik ratlarda vücut ağırlığında ve spesifik olarak testis ağırlığında meydana gelen azalma ayrıca sperm konsantrasyonundaki düşme, sperm hareketinde ve canlılık oranında azalma, kan glukoz düzeyinde artış tespit edilmiştir (Khaki ve ark., 2014; Atta ve ark., 2017). Bizim çalışmamızda deney öncesi ve sonrası denek ağırlıklarında farklılıklar gözlemlendi. Diyabetik grup dahil, tedavi ve diğer kontrol gruplarındaki deneklerin ağırlıklarının artmış olduğu tespit edildi. Çalışmamızda testis ağırlıklarında da farklılıklar görüldü. STZ ile diyabet oluşturulan grupta testis ağırlığının artmış olduğu tespit edildi.

STZ ile deneysel diyabet oluşturulmuş sıçan testis interstisyel dokuda kalınlaşmalar, inflamasyon, spermagonik ve Sertoli hücrelerinde belirgin azalma, , seminifer tübüllerde residual cisimcikler gözlenmiştir (Öztürk ve ark., 2002) hormonların azalmasına bağlı spermatogenezde azalma, spermatogenetik hücrelerde bozulma, dejenere hücrelerin lümeninde öbikleşmesi, seminifer tübül çaplarında küçülme belirtilmiştir. Tüm bu değişiklikler infertilite ile ilişkilendirilmiştir (Atta ve ark 2017; Sampannang ve ark., 2018; Mao ve ark., 2018). İntertisyel dokuda ödem, testesteron seviyesinde azalma, MDA miktarında artış olduğu bildirilmektedir. (Özfidan ve ark., 2017; Öztürk ve ark., 2002). STZ'ye bağlı diyabette azalan testesteron düzeylerinin kas kütlesi azalmasına neden olduğu öne sürülmüştür (Ding ve ark., 2015). STZ ile deneysel diyabet oluşturduğumuz sıçan testis seminifer tübüllerinde dejeneratif değişiklikler gözledik. Bazı tübüllerde djenerasyon, lümenlerinde hücre döküntüsü, intertisyel dokuda sıvı birikimi, ödem, tübüllerde

vakuolizasyon tespit edildi. Sertoli ve Leydig hücrelerinde dejenerasyon, intertisyal alanda bağ doku artışı, seminifer tübül bazal laminasında kalınlaşma izlemedik. Deney süresinin 20 gün olması, testis dokusunda yapısal değişikliklerin hafif derecede ortaya çıkmasına neden olmuştur.

Bitkisel ve hayvansal kaynaklı diyabet tedavi yöntemleri günümüzde de çok sayıda araştırmaya konu olmuştur. Türkiye’de yapılan kapsamlı bir araştırmada bu florada yaklaşık olarak 129 taksonda toplanan, 500 çeşit bitkinin antidiyabetik özellikte olduğu kaydedilmiştir. Bu bitkiler Rosaceae familyası, Asteraceae ve Lamiaceae familyalarına dahildir. Antidiyabetik olarak özellik gösteren bu bitkilerin temel özellikleri, insülin üretimini artırmak, salgılanan İnsülinin daha sağlıklı bir şekilde görevini yapmasını sağlamak, insülinin analoglarını üretilmesine katkı sağlamak ve kandaki glukozun emilimini artırmaktır. Bu bitkiler arasında Rosaceae L.familyasından olan kuşburnu, böğürtlen, badem, acıbadem, alıç, çilek, yabani elma gelirken, diğer familyalardan dağ kekiği, maydonoz, semiz otu, ebegümece, gelincik, deve diken, sarı papatya, hardal, soğan, asma yaprağı, susam, biberiye halk arasında en çok bilinen ve kullanılan bitkilerdir (Sarıkaya ve ark., 2010; Açkurt., 2017).

Bu bitkilerin özellikle Tip 2 diyabette glukoz değerlerinin azaltılmasında daha etkin olduğu, Tip 1 diyabette aynı tedavi ediciliği göstermediği saptanmıştır (Aslan ve Orhan, 2010; Ebe ve ark., 2016).

Besin değerinin zenginliği ve besleyici özelliği ile bilinen royal jelly kullanarak deneysel diyabet oluşturulmuş sıçanlarda dejenerasyona karşı koruyucu etkisi araştırılmıştır. İçeriğindeki çok yönlü bileşikler arasında serbest amino asit, yağ asidi, vitamin, şeker ve minarel olduğu bilinen bu antioksidan birçok dokuda ve sistemde

antiinflammatuvar etki göstererek serumdaki glikoz miktarının azalmasına neden olmuştur. STZ grubundaki ratlarda hasarlı olan seminifer túbül ile spermatojenik hücrelerin yapısında dejenerasyon ve testesteron seviyesinde azalma kaydedilmiştir (Karaca ve ark., 2015). Royal jellynin bu dejenerasyonlar üzerinde iyileştirici etkisi olduğu başka bir çalışma ile desteklenmiştir (Ghanbari ve ark., 2016).

Sulu çam çıra ekstrenin, STZ ile diyabet oluşturulan sıçanlardaki koruyucu etkisi incelenmiş olup, bu zengin ekstrenin içerisinde bulunan pelifenolik bileşiklerin ROS üretimini inhibe etme ve radikalleri süpürme özelliği olup diğer koruyucu özelliği olan kimyasallara göre daha az toksik etkiye sahip olduğu kanıtlanmış, hipergliseminin semptomlarına karşı yararlı ve iyileştirici etkisi, testiküler hasarı minimize ettiği bildirilmiştir (Yılmaz ve ark., 2018).

Güçlü bir biyolojik antioksidan olan Melatoninin STZ ile diyabet oluşturulan ratlar üzerindeki koruyucu etkisi çalışılmış, STZ uygulanmadan 7 gün önceden 10mg/kg melatonin başlanmıştır. Sonuçta melatoninin serbest radikalleri azalttığı gözlenmiştir (Yüzüak ve Aybak., 2015). Çuha çiçek yağı 20 gün boyunca ratlara oral olarak verilerek, tedavi edici özelliğine bakılmış, antioksidan oranında artış, kan şekerinde azalma gözlenmiştir (Söğütlü ve ark., 2019). Deneysel diyabet oluşturulmuş sıçanlarda alfa lipoik asit (Kara., 2010), Quersetin bileşiklerinin (Embr, Tez, Dani, & Prof, 2017) Aleo vera'nın (Noor ve ark., 2017), zencefil ve tarçın bitki ekstralarının (Khaki ve ark., 2014) testis dokusundaki hasara karşı etkili olduğu bildirilmiştir.

Daniel Orieki ve arkadaşları, Corchorus Olitorius yapraklarından elde edilen ekstre ile 28 gün boyunca sıçanlara oral yolla 250 mg/kg, 500 mg/kg, 1000 mg /kg ekstrakt verilerek sperm parametrelerinde, hormon değişimlerinde ve histolojik incelemelerde

meydana gelen değişiklikleri kaydedilmiştir. 1000 mg / kg yüksek doz grubunda epididimis ve prostat ağırlığı azalırken, diğer doz gruplarında bir değişim olmadı. Sperm hareketliliği ve sperm pH'ı incelendiği zaman tedavi gruplarındaki hareketliliğin ve tedavi gruplarındaki pH değerlerinin kontrol grubuna oranla daha yüksek olduğu kaydedilmiştir. Total sperm konsantrasyonu ise kontrol grubu ile 250 mg/kg ve 500 mg/kg tedavi grupları arasında bir fark görülmezken, 1000 mg/kg grubunda toplam sperm konsantrasyonunda ciddi bir düşüş görülmüştür. Total sperm anomalilerine bakıldığı zaman kontrol grubu ile 500 mg/kg tedavi grubu arasında önemli derece bir fark gözlemlenmezken 1000 mg/kg tedavi grubunda anomali oranı çok bulunmuştur. Histolojik değerlendirme sırasında kontrol grubunda normal seminifer tübül yapısı, sağlıklı bir işleyiş gösteren spermatogenez ve normal Sertoli ve Leydig Hücre yapıları gözlemlenirken, histolojik değerlendirme bakımından kontrol grubu ile 250 mg/kg ve 500 mg/kg tedavi grupları arasında belirgin fark gözlemlenmezken, 1000 mg/kg yüksek doz grubunda her seminifer tübül başına yaklaşık 30 tane olgun spermatid bulunurken, 250 mg/kg ve 500 mg/kg grubunda bu yoğunluk seminifer tübül başına sırasıyla 200 ve 280 olarak tespit edilmiştir. *Corchorus olitorius*'un tedavi edici, iyileştirici, antioksidan özelliği araştırılırken 1000 mg/kg lik dozun yüksek doz olduğu ve yarardan çok zarar verebileceği anlaşılmıştır. Testesteron miktarı ise her 3 tedavi grubundada önemli derecede artış göstermiştir (Orieke ve ark., 2019).

Başka bir çalışmada ise sıçanlarda *Corchorus Olitorius*un erkek üreme sistemi üzerinde histolojik ve biyokimyasal olarak olumsuz etkileri olduğu kanısına varılmıştır. 31 gün boyunca 250 mg/kg, 500 mg/kg ve 750 mg/kg, aqueous extract of *Corchorus olitorius* verilmiş olup deney sonucundaki incelemede kontrol grubuna

göre testesteron seviyelerinde azalma, sperm hareketliliğinde ve canlılığında önemli ölçüde düşüş gözlenmiştir. Spermiler sadece 250 mg/kg grubunda gözlenirken, diğer gruplarda görülmemiştir. CO'nun kan testis bariyerini geçebilecek yapıda olduğunu, toksik etkisinin olmadığını fakat yüksek dozlarda testesteron düzeyini, spermilerin hareketini, canlı sperm sayısını azalttığı bildirilmiştir.(Oyedeji ve ark., 2013). Çalışmamızda bu çalışmalar göz önüne alınarak ratlara 250mg/kg CO verilmesinin uygun olacağına karar verdik. Verdiğimiz dozda CO kontrol grubunda testisler üzerinde herhangi bir dejenerasyona neden olmadığını, kontrol grubuna benzdiğini gördük. CO ile tedavi edilen diyabet grubunda kan glukoz değerlerinin düştüğünü, apoptotik hücre sayısının, seminifer tübül lümenlerinde hücre birikintilerinin, veziküler cisimciklerin ve vakuolizasyonun azaldığını gözledik. Yapılan makale taramalarında deneysel diyabette CO ile tedavi edilmiş bir çalışmaya rastlamadık. Bu bulgular tarafımızdan ilk defa sunulmaktadır.

PCA çeşitli çalışmalarda kullanılan ve antioksidan, antidiyabetik, antiviral, antibakteriyal, antikanserojen etkileri bilinen bir bileşiktir. İçerdiği polifenoller aracılığıyla bu etkileri yapmaktadır. Deneysel iskemi reperfüzyonda oksidatif stresi azaltarak apoptozisi azalttığı (Yüksel ve ark., 2017), yüksek kan basıncını engellediği bildirilmiştir (Safaeian ve ark., 2016). Antikanserojen olarak kullanılan metatroksatin testis dokusunda oluşturduğu hasara karşı PCA'nın etkili olduğu gözlenmiştir (Owumi ve ark., 2019)

STZ ile diyabet oluşturulmuş sıçanlara 25 mg/kg ve 50 mg/kg PCA verilmiş ve üreme organları üzerindeki etkisi incelenmiştir. Tedaviden 45 gün sonra her iki dozda da kontrol grubuna oranla tedavi gruplarında glukoz düzeyinin azaldığı, diyabete bağlı testis ve epididimiste meydana gelen dejenerasyonların en aza indiği,

üreme hormonlarının ve enzimlerinin seviyesinin arttığı görülmüştür. Sperm morfolojisi incelendiğinde tedavi gruplarında daha kaliteli spermler bulunduğu, lipid peroksidasyonunu engellediği ve sonuç olarak üreme sistemini diyabetin neden olacağı zararlı etkenlerden önemli derecede koruduğu bildirilmiştir (Adedora ve ark., 2019) Bir başka çalışmada ise 50, 100 ve 200mg/kg dozlarında PCA uygulanmış, PCA'ya bağlı vücut ağırlıklarında artış, diyabet grubunda ise azalma gözlenmiştir. Vücut ağırlıkları ve kan glukoz düzeylerinin kontrol grubuna en yakın olarak tespit edildiği PCA dozunun 100mg/kg olduğu bildirilmiştir (Pugalendi, 2010).

Çalışmamızda antidiyabetik ve antioksidan etkisi bilinen PCA pozitif kontrol grubu olarak kullanılmış ve CO etkileri ile karşılaştırılmıştır. Tedavi dozu olarak 20mg/kg seçilmiştir. Sadece PCA verilen sıçanlarda vücut ağırlıklarının en fazla olduğu gözlenmiş, ancak gruplar arası anlamlı bir fark bulunmamıştır. Uyguladığımız bu dozda bile yüksek kan glukoz seviyelerini diyabetik gruba göre azalttığı görülmüştür. CO ile karşılaştırıldığında ise STZ'ye bağlı değişikliklerin azaltılmasında daha etkili olduğu tespit edilmiştir. Apoptotik hücreler, kontrol grupları ile karşılaştırıldığında STZ'li grubunda arttığı, PCA ve CO ile tedavi edilen gruplarda azaldığı, TUNEL (+) hücrelerin PCA ile tedavi edilen grupta CO ile tedavi edilen gruba göre daha az olduğu gözlenmiştir.

6.SONUÇLAR

1. STZ ile deneysel diyabet oluşturulan sıçan testis dokusunda diyabete bağlı yapısal değişiklikler gözlenmiştir.
2. Değişikliklerin hafif düzeyde olması deney süresinin 20 gün olmasına bağlı olabileceği şeklinde yorumlanmıştır. Deney süresinin daha uzun olması diyabetin kronikleşmesi testislerdeki etkileri daha belirginleştirecektir.
3. Diyabetik sıçanların deney süresi sonunda kan glukoz değerleri oldukça yüksek gözlenirken, vücut ağırlıklarında ve testis ağırlıklarında artış görüldü.
4. Diyabetik gruptaki seminifer tübüllerde dejenerasyon saptanmıştır.
5. PCA ve CO ile tedavi edilen diyabetli sıçan seminifer tübül yapılarının daha düzgün olduğu gözlenmiştir.
6. Tedavi gruplarında kan glukoz değerlerinin, diyabetik gruba göre anlamlı düştüğü tespit edilmiştir. PCA ile tedavi edilen grupta düşme, CO ile tedavi edilen gruba göre daha fazla değerde bulunmuştur.
7. Apoptotik hücre sayısının tedavi gruplarında azalmış olduğu saptanmıştır, PCA ile tedavi edilen grupta azalma, CO ile tedavi edilen gruba göre daha fazla bulunmuştur.
8. Deneysel diyabette testis dokusundaki değişikliklere karşı kullanılan CO ile ilgili bulgular ilk kez sunulmuştur. Kullanılan dozdaki CO etkileri PCA ile karşılaştırılmıştır. Farklı sürelerde ve PCA ve CO'nun farklı dozları ile yapılacak çalışmaların sonuçları bu maddelerin diyabet tedavisindeki etkileri yönünde daha fazla bilgi elde edilmesini sağlayacaktır. Çalışma sonucunda elde edilen veriler konu ile ilgili yapılacak çalışmalarda kaynak olarak kullanılabilir.

7. KAYNAKÇA

Adedosu OT, Akanni OE, Afolabi OK, Adedeji AL. Effect of *Corchorus olitorius* Extract on Certain Antioxidants and Biochemical Indices in Sodium Arsenite Exposed Rats. *American Journal of Phytomedicine and Clinical Therapeutics*. 2015; (3), 245–256.

Ademiluyi AO, Oboh G, Aragbaiye F P, Oyeleye SI, Ogunsuyi OB. Antioxidant properties and in vitro α -amylase and α -glucosidase inhibitory properties of phenolics constituents from different varieties of *Corchorus* spp. *Journal of Taibah University Medical Sciences*. 2015; 10 (3), 278–287.

Airaodion AI, Akinmolayan JD, Ogbuagu EO, Airaodion EO, Ogbuagu, U, Awosanya OO. Effect of Methanolic Extract of *Corchorus olitorius* Leaves on Hypoglycemic and Hypolipidaemic Activities in Albino Rats. *Asian Plant Research Journal*. 2019; 2(4), 1–13.

Akbarzadeh A, Norouzian D, Mehrabi MR, Jamshidi S, Farhangi A, Allahverdi A, Lame B. Induction of diabetes by Streptozotocin in rats. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*. 2007; 22(2), 60–64.

Alves M, Martins A, Cavaco J, Socorro S, Oliveira P. Diabetes, insulin-mediated glucose metabolism and Sertoli/blood-testis barrier function. *Tissue Barriers*. 2013; 1(2), e23992.

Alves M, Martins A, Rato L, Moreira P, Socorro S, Oliveira P. Molecular mechanisms beyond glucose transport in diabetes-related male infertility. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Basis of Disease*. 2013; 1832(5), 626–635.

Asmat U, Abad K, Ismail K. Diabetes mellitus and oxidative stress—A concise review. *Saudi Pharmaceutical Journal*. 2016; 24(5), 547–553.

Atta MS, Almadaly EA, El-Far AH, Saleh RM, Assar DH, Al Jaouni SK, Mousa SA. Thymoquinone defeats diabetes-induced testicular damage in rats targeting antioxidant, inflammatory and aromatase expression. *International Journal of Molecular Sciences*. 2017; 18 (5).

Barrett K, Barman S, Yuan J, Brooks H. *Ganong's Review of Medical Physiology*, Twenty sixth Edition. McGraw-Hill Education. 2019.

Batran R, Al B, Abdulla FM, Obaidi J, Hajrezaei, M, Hassandarvish, P, Talaei, S. Gastroprotective effects of *Corchorus olitorius* leaf extract against ethanol-induced

gastric mucosal hemorrhagic lesions in rats. *Journal of Gastroenterology and Hepatology (Australia)*. 2013; 28(8), 1321–1329.

Büyükgüzel E. Protein Oksidasyonun Biyokimyasal ve Moleküler Mekanizması
Biochemical and Molecular Mechanism of Protein Oxidation. 2013; 3(1), 40–51.

Casner W, Campbell E, Early G. A five-week cardiovascular conditioning program.
Journal of Sports Medicine and Physical Fitness. 1968; 8(4), 236–240.

Cebe E, Karaman Ö. Diyabet ve Türkiye’de Antidiyabetik Olarak Kullanılan Bitkiler. *Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi*. 2016.

Chen H, Guo J, Pang B, Zhao L, Tong X. Application of Herbal Medicines with Bitter Flavor and Cold Property on Treating Diabetes Mellitus. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2015.

Cofiansu G, An E. 21. Yüzyılın Sağlık Krizi : Diyabet 21 st Century ’ s Health Crises : Diabetes. 2009; 115–122

Ding L, Liu Y, Liu E, Pan X, Guo X, Sheng Z, Huang F The effects of diabetes on male fertility and epigenetic regulation during spermatogenesis. *Asian Journal of Andrology*. 2015; 17(6), 948–953.

Dinulovic D, Radonjic G. Diabetes mellitus/Male infertility. *Systems Biology in Reproductive Medicine*. 1990; 25(3), 277–293.

Eken A. Rat Kan ve Doku Örneklerinde Oksidatif Stres Parametreleri. *Journal of Clinical and Analytical Medicine | Journal of Clinical and Analytical Medicine*. 69–73.

Erbaş O. Experimental diabetes model. *Istanbul Bilim University Florence Nightingale Journal of Medicine*. 2015; 1(1), 40–42.

Erdem E, Özlem D. Deneysel Araştırma Etanolün Sıçan Testis Dokusunda Meydana Getirdiği Apoptotik Değişiklikler Üzerine Eleştirel Cardamomum'un Etkilerinin Araştırılması. 2016; 21(1), 11–16.

Eroschenko V. Atlas of Histology with functional correlations. Difiore's. 2008.

Eşrefoğlu M. Özel Histoloji. İstanbul Tıp Kitabevleri; 2016.

Fallah V, Mahabadi A, Mahabadi Y, Kashani H, Nikzad H. Protective Effect of *Allium cepa* (Onion) Seeds (AC) Extract on Histopathology of Testis in STZ-Induced Male Rats. *International Journal of Morphology*. 2017; 35(4), 1517–1524.

Genuth S. Classification and diagnosis of diabetes mellitus. *Medical Clinics of North America*. 1982; 66(6), 1191–1207.

Ghanbari E, Nejati V, Khazaei M. Antioxidant and protective effects of Royal jelly on histopathological changes in testis of diabetic rats. *International Journal of Reproductive BioMedicine*. 2016; 14(8), 511–518.

Gobbo MS, Pereira Costa CF, Humberto Silva SG, De Almeida, EA, Góes RM. Effect of Melatonin Intake on Oxidative Stress Biomarkers in Male Reproductive Organs of Rats under Experimental Diabetes. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2015.

Hamamcioğlu, C. Diyabette Oksidatif Stres ve Antioksidanların Rolü The Role of Oxidative Stress and Antioxidants in Diabetes Mellitus. 2017; 0(372).

Hamzah R, Jigam A, Makun H, Egwim E. Phytochemical screening and invitro antioxidant activity of methanolic extract of selected nigerian vegetables. *Asian Journal of Basis and Applied Sciences*. 2014; 1(1), 1–14.

Helaly A, Mady E, Craker L. Characterization of f our *Molokhia Corchorus olitorius* Landraces by Morphology and Chemistry. 2017; 5(2), 1–6.

Hosen M, Das D, Kobi R, Chowdhury D, Alam M, Rudra B, Al-Forkan M. Study of arsenic accumulation in rice and evaluation of protective effects of *Chorchorus olitorius* leaves against arsenic contaminated rice induced toxicities in Wistar albino rats. *BMC Pharmacology and Toxicology*. 2016; 17(1), 1–9.

Jangir R, Jain G. Diabetes Mellitus Induced Impairment of Male Reproductive Functions: A Review. *Current Diabetes Reviews*. 2014; 10(3), 147–157.

Kakkar S, Bais S. A Review on Protocatechuic Acid and Its Pharmacological Potential. *ISRN Pharmacology*. 2014; 1-9.

Khaki A, Hajhosseini L, Golzar F, Ainehchi N. 2014; *Diabetes Rats*. 11, 1–8.

Kianiford D, Sadrkhanlou R, Hasanzadeh S. Archive The Ultrastructural Changes of the Sertoli and Leydig Cells Following Archive of SID. 2012; 15(1), 623–635.

Köroğlu, P. Deneysel Diyabette Testis Dokusunun Histolojik Olarak İncelenmesi Histological Investigation of Testes Tissue in Experimental Diabetes. 2019; 59–68.

Kurçer Z, Karaoğlu D. Deneysel Diyabet Modellerinde Alloksan ve Streptozotosin Kullamı. Turkish Journal of Endocrinology and Metabolism. 2012; 16(2), 34–40.

Lekesizcan A, Sönmez F. Sıçan Testis Dokusunda Kadmiyum ile Oluşturulan Hasar Üzerine Etil Pirüvatın Etkilerinin araştırılması. Fırat Tıp Dergisi. 2016; 21(1), 17–23.

Lenzen S. The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced diabetes. Diabetologia, 2008; 51(2), 216–226.

Lüleci G, Sakızlı M, Alper A. Renkli genetik atlası. Nobel Tıp Kitabevi. 2000; 312-313.

Mao F, Zhang R, Johnson A, He L, Kong L. Modulation of Diabetes Mellitus-Induced Male Rat Reproductive Dysfunction with Micro-Nanoencapsulated Echinacea purpurea Ethanol Extract. *BioMed Research International*, 2018.

Mescher A. *Jungueira's Basic Histology*. Mc Graw- Hill Education. 2018.

Mibei K, Ojijo O, Karanja M, Kinyua K. Phytochemical and antioxidant analysis of methanolic extracts of four african indigenous leafy vegetables. *Annals. Food Science and Technology*. 2012; 13(1), 37–42.

Moore L, Persaud N, Torchia G. *The developing human: clinically oriented embryology* (10th ed.). Philadelphia: Saunders; 2015.

Moore, Keith L, Dalley, Arthur F, Agur, Anne R. *Kliniğe Yönelik Anatomi*. Güneş Kitabevi; 2006.

Noor A, Gunasekaran S, Vijayalakshmi A. Improvement of Insulin Secretion and Pancreatic β -cell Function in Streptozotocin-induced Diabetic Rats Treated with Aloe vera Extract. *Pharmacognosy research*, 9. 2017; S99–S104.

Orieke D, Ohaeri C, Ijeh L, Nnah S. Semen quality, hormone profile and histological changes in male albino rats treated with *Corchorus olitorius* leaf extract. *Original Research Article*. 2019; 9(6), 551–562.

Owumi E, Ochaoga E, Odunola A, Farombi O. Protocatechuic acid inhibits testicular and epididymal toxicity associated with methotrexate in rats. *Andrologia*. 2019; 51(9), 1–9.

Oyedeji O, Bolarinwa F, Akinbode A. Effect of *Corchorus olitorius* extract on reproductive functions in male albino rats. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 2013; 5(3), 427–431. *Andrologia*, 51(9), 1–9.

Ozansoy G. The Effects of Vitamin E Treatment on Tracheal Reactivity and Some Biochemical Parameters in Diabetic Rats *Diyabetik Siçanlarda Vitamin Tedavisinin Trakea Reaktivite Ve Bazı Biyokimyasal Paramet. Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi*. 2003; 32(4), 231–241.

Özfidan K, Ersoy Ş, Bozdemir Y. Jnk İnhibisyonunun Diyabetik Testis Dokusundaki Fas/FasI Sinyal Yolağına Etkileri. *Medical Journal of Western Black Sea*. 2017; 1(3), 112–118.

Öztürk F, Gül M, Ağkadir M, Yağmurca M. Deneysel Diyabetin Sıçan Testislerinde Meydana Getirdi i Histolojik De i iklikler. Journal of Medicine (Cincinnati). 2002; 173–178.

Pane Y, Lelo A, Ritarwan K, Nerdy N. Increasing atherosclerosis in streptozotocin-induced diabetes into four groups of mice. Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences. 2018; 6(2), 287–292.

Pawlina W, Ross M. Histoloji Konu Anlatımı ve Atlası Palme Yayınevi - Akademik Kitaplar. 2017.

Pugalendi R. Antihyperglycemic Effect of Protocatechuic Acid on Streptozotocin-Diabetic Rats. Ranganathan Harini and Kodukkur Viswanathan Pugalendi. Journal of Basic Clinical Physiological and Pharmacology.2010; 21, 79–92.

Reis B, Martins M, Barreto B, Milhazes N, Garrido P. Structure –property-activity relationship of phenolic acids and derivatives. Protocatechuic acid alkyl esters. Journal of agriculture and food chemistry. 2010; 58(11)6986-6993.

Richard A, Wayne V, Adam M. Gray's Anatomy for Students. Churchill Livingstone.(2009).

Sadler T. Langman's Medical Embryology (Twelfth Edition). LWW. (2011).

Safaeian L, Hajhashemi V, Javanmard S, Naderi S. The effect of protocatechuic acid on blood pressure and oxidative stress in glucocorticoid-induced hypertension in rat. Iranian Journal of Pharmaceutical Research, 15(April 2014). 2016; 83–91.

Sampannang A, Arun S, Burawat J, Sukhorum W, Iamsaard S. Testicular histopathology and phosphorylated protein changes in mice with diabetes induced by multiple-low doses of streptozotocin: An experimental study. International Journal of Reproductive BioMedicine. 2018; 16(4), 235–246.

Sancak B, Cumhuri M.Fonksiyonel Anatomi: Baş, Boyun ve İç Organlar. ODTÜ Yayıncılık. 2002.

Sarikaya S, Öner H, Harput Ő. Türkiye florasında diyabet tedavisinde kullanılan tıbbi bitkiler. Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi. 2010; 39(4), 317–342.

Sefil N, Sefil F. DİYET Ve Diyabet. Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Dergisi. 2013; 4(15), 25–32.

Semaming Y, Pannengetch P, Chattipakorn S, Chattipakorn N. Pharmacological properties of protocatechuic acid and its potential roles as complementary medicine. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. 2015.

Sezer K, Keskin M. Serbest Oksijen Radikallerinin Hastalıkların Patogenezisindeki Rolü. F.Ü.Sağ. Bil. Vet. Dergisi. 2014; 28(1), 49–56.

Simas N, Mendes B, Paccola C, Vendramini V, Miraglia S. Resveratrol attenuates reproductive alterations in type 1 diabetes-induced rats. International Journal of Experimental Pathology. 2017; 98(6), 312–328.

Songur A, Karateke H, Tosun M, Gönül Y, Turamanlar O. Ratlarda Postnatal Dönemde Testis Dokusu ile Kan Testis Bariyerinin Gelişiminin Histomorfometrik ve İmmunohistokimyasal Değerlendirilmesi. Kocatepe Tıp Dergisi. 2016; 17(2), 52–59.

Soykut G, Becer E, Çalış İ, Yücesan S. Apoptotic effects of Corchorus Olitorius L.leaf extracts in colon adenocarcinoma cell lines. Progress in Nutrition. 2018; 20(4): 689-698

Söğütlü İ, Mıs L, Mert N. The Effect of Evening Primrose Oil (*Oenothera Biennis*) on Insulin, Resistin and Adiponectin in Experimental Diabetes Induced by STZ. 2019; 30(3), 193–196.

Sun G, Li Y, Cui P, Guo Q, Dong C, Zou H, Bin, Miao N. Review of Herbal Traditional Chinese Medicine for the Treatment of Diabetic Nephropathy. *Journal of Diabetes Research*. 2016.

Taşlıpınar A, Çorakçı A. Diyabet Tanı ve Tedavi Rehberi 2017. Ulusal Diyabet Konsensus Grubu. 2017.

Uludağ M. Diyabete Bağlı İkincil Hastalıklar (Komplikasyonlar). 2007; 39–44.

Vya B, Boye A, Quansah N. Antioxidant and wound healing studies on the extracts of *Corchorus olitorius* leaf. *Science Research & Review Journal*. 2013; 1(3), 67–73.

Wu Y, Ding Y, Tanaka Y, Zhang W. Risk factors contributing to type 2 diabetes and recent advances in the treatment and prevention. *International Journal of Medical Sciences*. 2014; 11(11), 1185–1200.

Yaman T, Doğan A. Streptozotosin ile Diyabet O luşturulan S ıçanlarda M eşe Palamudu (Quercus branti Lindl) E kstraktların Karaciğer ve Pankreası Koruyucu Etkileri. 2013; 1(2), 7–15.

Yavuzer S. Fizyoloji Pratik Kılavuzu (2.baskı). ANTIP A.ř. 1999.

Yılmaz Ö, Demir E, Sarıgöl H. Sulu Çam Çıra Ekstresinin Diyabet Oluşturulan Sıçanların Testis Dokusu Üzerindeki Etkisi. Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi. 2018; 22(Özel), 277.

Yılmaz Ö, Demir E. Streptozotosin ile Tip-2 Diyabet Oluşturulan Sıçanlarda Çam Yağının Antihiperglisemik ve Bazı Biyokimyasal Parametrelere Etkisi. Marmara University Journal of Science. 2013; 25(3), 140–140.


Yüksel M, Yıldar M, Başbuğ M, Çavdar F, Çıkman Ö, Akşit H, Akşit D. Does protocatechuic acid, a natural antioxidant, reduce renal ischemia reperfusion injury in rats? Ulusal Travma ve Acil Cerrahi Dergisi. 2017; 23(1), 1–6.

Yüzüak H, Aybak M. The possible protective effect of melatonin on streptozotocin induced experimental diabetes. Journal of Clinical and Experimental Investigations. 2015; 5(4), 592–598.

Zhang M, Liang X, Chen R. Ancient records and modern research on the mechanisms of chinese herbal medicines in the treatment of diabetes mellitus. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. 2015.

8.EKLER:

EK 1.Etik kurul onayı



YAKIN DOĞU ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU
ARAŞTIRMA PROJESİ DEĞERLENDİRME RAPORU

Toplantı Tarihi : 20/02/2018
Toplantı No : 2018/20
Proje Başvuru No : 35

Yakın Doğu Üniversitesi, Tıp Fakültesi'nden, Sorumlu Araştırmacı Prof. Dr. Aysel KÜKNER tarafından hazırlanan "*DeneySEL diyabet oluşturulmuş sıçanlarda, Corchorus Olitoriusun testis dokusu üzerindeki etkilerinin ışık mikroskopik olarak incelenmesi*" başlıklı araştırma önerisi Kurulumuzca etik olarak uygun bulunmuştur.

Prof. Dr. Emine KOÇ	(BAŞKAN)
1. Prof. Dr. Tamer YILMAZ	(ÜYE)
2. Prof. Dr. Vedat SAĞMANLIGİL	(ÜYE)
3. Doç. Dr. Dilek ARSOY	(ÜYE)
4. Doç. Dr. Bilgen BAŞGUT	(ÜYE)
5. Doç. Dr. Serdar SUSEVER	(ÜYE)
6. Yrd. Doç. Dr. Savaş Volkan GENÇ	(ÜYE)
7. Vet. Hek. Umut SAYILI	(ÜYE)
8. Avukat Burak NOLAN	(ÜYE)
9. Vet. Hek. Meliha TEMİZEL	(ÜYE)

EK 2.Orjinallik Raporu

master tezi

ORIGINALITY REPORT

3%

SIMILARITY INDEX

3%

INTERNET SOURCES

1%

PUBLICATIONS

%

STUDENT PAPERS

PRIMARY SOURCES

1

www.phdernegi.org

Internet Source

<1%

2

SUSLU, Husnu, ALTUN, Murat, ERDIVANLI, Basar and SUSLU, Hikmet Turan. "Comparison of the Effects of local and Systemic Dexamethasone on the Rat Traumatic Sciatic nerve Model", Turkish Neurosurgery Society, 2013.

Publication

<1%

3

acikerisim.deu.edu.tr

Internet Source

<1%

9.ÖZGEÇMİŞ:

Kişisel Bilgiler

İsim:	NEDİME MERCAN
Doğum Tarihi:	18/05/1993
Mail:	nedime.mercan@outlook.com
İletişim:	05488888286
Doğum Yeri:	Lefkoşa
Uyruğu:	KKTC

Eğitim Düzeyi:

	Mezun Olduğu Okulun Adı- Bölüm
İlkokul	Balıkesir Meriç Merkez İlkokulu
Ortaokul	Değirmenlik Lisesi
Lise	Bülent Ecevit Anadolu Lisesi
Üniversite	Doğu Akdeniz Üniversitesi- Moleküler Biyoloji ve Genetik

İş Deneyimi:

Kolan British Hospital	Biyolog
Trafik Dairesi	Katip Yardımcısı

