



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

**FINDIK TÜKETİMİNİN ERKEK
SIÇANLARIN ÜREME SİSTEMİNDE
DOKSORUBİSİN VE YAŞLANMAYLA
UYARILAN OKSİDATİF STRESE ETKİSİNİN
İNCELENMESİ**

Hanife KARA

DOKTORA TEZİ

Prof. Dr. Asım ÖREM

TRABZON – 2018



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

**FINDIK TÜKETİMİNİN ERKEK
SIÇANLARIN ÜREME SİSTEMİNDE
DOKSORUBİSİN VE YAŞLANMAYLA
UYARILAN OKSİDATİF STRESE ETKİSİNİN
İNCELENMESİ**

Hanife KARA

DOKTORA TEZİ

Prof. Dr. Asım ÖREM

TRABZON – 2018

ONAY

Bu Tez Doktora Tezi Standartlarına Uygun Bulunmuştur.

Prof. Dr. Süleyman Caner KARAHAN

Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı

Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Doktora öğrencisi Hanife KARA'nın hazırladığı "Fındık Tüketiminin Erkek Sıçanların Üreme Siteminde Doksorubisin ve Yaşlanmayla Uyarılan Oksidatif Strese Etkisinin İncelenmesi" başlıklı tez KTÜ Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca kapsam ve bilimsel kalite yönünden değerlendirilerek Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Danışman Prof. Dr. Asım ÖREM

Doktora Sınavı Jüri Üyeleri

Prof. Dr. Asım ÖREM

Prof. Dr. Birgül KURAL

Prof. Dr. İlknur TOSUN

Prof. Dr. Özcan EREL

Doç. Dr. Hüseyin Avni UYDU

Tarih: 15 / 03 /2018

Bu tez KTÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun/...../..... tarih ve sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Ali Osman KILIÇ

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

BEYAN

Bu tez çalışmasının Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü tez yazım kılavuzu standartlarına uygun olarak yazıldığını, tezin akademik ve etik kurallara bağlı kalınarak gerçekleştirilmiş özgün bir bilimsel araştırma eserim olduğunu, tezde yer alan ve bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen tüm bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve kaynakların kaynaklar listesinde yer aldığını, tezin çalışılması ve yazımı aşamalarında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

15 /03 /2018

Hanife KARA

TEŞEKKÜR

Lisansüstü eğitim sürecimde üzerimde büyük emeği olan, bilimsel, akademik ve insani açıdan her daim örnek aldığım, tez çalışmamın gerçekleşmesinde bilgi ve tecrübeleriyle her zaman bana yol gösterici olan, değerli danışman hocam Sayın Prof. Dr. Asım ÖREM'e,

Bilimsel ve akademik her anlamda imkanlarını, bilgi ve deneyimlerini her zaman benimle paylaşan, hiçbir zaman beni geri çevirmeyen KTÜ Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyesi değerli hocalarım Sayın Yrd. Doç. Dr. Fulya BALABAN YÜCESAN ve Prof. Dr. Birgül KURAL' a,

Çalışma konusu hakkında bilgilerinden ve tecrübelerinden istifade ettiğim Sayın Prof. Dr. Esin YULUĞ, Yrd. Doç. Dr. Gökçen KERİMOĞLU, Doç. Dr. İsmail ABİDİN ve Doç. Dr. Selcen ABİDİN, Prof. Dr. Muhittin SERDAR' a,

Lisansüstü eğitimim boyunca her bakımdan bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım çok değerli hocalarım; emekli öğretim üyesi Sayın Prof. Dr. Eşref Edip KEHA, Prof. Dr. Orhan DEĞER, Prof. Dr. Süleyman Caner KARAHAN, Prof. Dr. Yüksel ALİYAZICIOĞLU, Prof. Dr. Ahmet ALVER, Doç. Dr. Ahmet MENTEŞE ve aramızdan ayrılan, her zaman saygı ve sevgiyle andığım değerli hocam Prof. Dr. Ekin ÖNDER'e

Eğitim-öğretim hayatım boyunca pek çok anı biriktirdiğim, çalışmamda desteklerini hiç eksik etmeyen, başta Arş. Gör. Serap ÖZER YAMAN, Akın BODUR, Sibel TÜREDİ, Mehmet ERDEM olmak üzere Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı ve Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı' ndaki tüm değerli çalışma arkadaşlarıma ve anabilim dalımızın tüm doktora ve yüksek lisans öğrencilerine,

Bu tez çalışmasını gerçekleştirirken maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen, daima yanımda olan başta sevgili annem ve babam olmak üzere tüm aileme ve tüm sevdiklerime,

Sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım....

Hanife KARA

Bu alışma, Karadeniz Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'nin
TSA-2015-5262 nolu projesi tarafından desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

KABUL ve ONAY	Sayfa
BEYAN	
TEŞEKKÜR	
TABLolar DİZİNİ	x
RESİMLER DİZİNİ	xii
ŞEKİLLER DİZİNİ	xiii
KISALTMALAR, SİMGELER ve FORMÜLLER DİZİNİ	xv
1. ÖZET	1
2. SUMMARY	2
3. GİRİŞ ve AMAÇ	3
4. GENEL BİLGİLER	5
4.1. Ağaçta Yetişen Sert Kabuklu Meyveler	5
4.1.1. Fındık	5
4.1.2. Fındık Bitkisinin Sağlık Üzerine Etkisi	10
4.2. Erkek Üreme Sistemi	12
4.2.1. Testis	12
4.2.2. Üreme Fizyolojisi	14
4.2.2.1. Spermatogenez	14
4.2.2.2. Spermatozoanın Olgunlaşması ve Ejekülasyon	16
4.2.2.3. Semen İçeriği	17
4.2.2.4. Spermatogenezin Hormonal Düzenlenmesi	18
4.3. Üreme Sisteminde Oksidatif Stres	18
4.3.1. Sperm Hücrelerinde Reaktif Oksijen Türlerinin Fizyolojik Etkileri	18
4.3.2. Semende Serbest Radikal Kaynakları	19
4.3.3. Semendeki Antioksidan Mekanizmalar	20
4.4. Doksorubisin	21
4.4.1. Etki Mekanizması	22
4.4.2. Fertilite Üzerine Etkisi	22
4.5. E Vitamini	22
4.5.1. Biyolojik Sistemdeki Rolü	24
4.6. Yaşlanma	25

4.6.1. Yaşlanma Teorileri	25
4.6.1. Yaşlılık ve Fertilite	27
5. GEREÇ ve YÖNTEM	29
5.1. Gereçler	29
5.1.1. Kullanılan Deney Hayvanları	29
5.1.2. Kullanılan Cihaz, Alet ve Malzemeler	29
5.1.3. Kullanılan Kimyasal Maddeler	30
5.1.4. Kullanılan Ticari Kitler	31
5.2. Yöntemler	31
5.2.1. Çalışma Grubunun Oluşturulması	31
5.2.2. Fındık ve Fındık Zarı Katkılı Yemin Hazırlanması	33
5.2.3. Doksorubisin' in Hazırlanması	35
5.2.4. E Vitamininin Hazırlanması	35
5.2.5. Histolojik ve Biyokimyasal Analizler İçin Örneklerin Hazırlanması	37
5.2.6. Histolojik Analizler	37
5.2.6.1. Işık Mikroskobu için Dokuların Hazırlanması ve Kesitlerin Alınması	37
5.2.6.1. Hematoksilen-Eozin Boyama Yöntemi	38
5.2.6.3. Epididimiste Toplam Sperm Sayısı, Motilite, Canlılık ve Morfoloji Değerlendirmesi	39
5.2.6.4. İmmünohistokimyasal İşlemler	40
5.2.7. Biyokimyasal Analizler	40
5.2.7.1. Glutasyon Peroksidaz Aktivite Tayini	40
5.2.7.2. Glutasyon Ölçümü	41
5.2.7.3. MDA Ölçümü	44
5.2.7.3.1. Doku ve Sperm MDA Ölçümü	44
5.2.7.3.2. Plazma MDA Ölçümü	46
5.2.7.4. Testosteron Ölçümü	48
5.2.7.5. E Vitamini Ölçümü	40
5.2.7.6. Protein Tayini	50
5.2.8. Kullanılan İstatistiksel Yöntemler	52
6. BULGULAR	53
6.1. Çalışma Grubuna Ait Vücut Ağırlığı Bulguları	53

6.2. Genç Hayvanlara Ait Bulgular	54
6.2.1. Genç Hayvanların Histopatolojik Verilerine Ait Bulgular	54
6.2.1.1. Morfolojik Bulgular	54
6.2.1.2. Semen Analizine Ait Bulgular	72
6.2.2. Genç Hayvanların Biyokimyasal Verilerine Ait Bulgular	75
6.2.2.1. Sperm Örneklerine Ait Biyokimyasal Bulgular	75
6.2.2.2. Plazma Örneklerine Ait Biyokimyasal Bulgular	79
6.2.2.3. Diğer Doku Örneklerine Ait Bulgular	81
6.3. Yaşlı Hayvanlara Ait Bulgular	85
6.3.1. Yaşlı Hayvanların Histopatolojik Verilerine Ait Bulgular	85
6.3.1.1. Morfolojik Bulgular	85
6.3.1.2. Semen Analizine Ait Bulgular	95
6.3.2. Yaşlı Hayvanların Biyokimyasal Verilerine Ait Bulgular	97
6.3.2.1. Sperm Örneklerine Ait Biyokimyasal Bulgular	97
6.3.2.2. Plazma Örneklerine Ait Biyokimyasal Bulgular	100
6.3.2.3. Diğer Doku Örneklerine Ait Biyokimyasal Bulgular	102
7. TARTIŞMA ve SONUÇ	105
8. SONUÇ ve ÖNERİLER	116
9. KAYNAKLAR	117
11. ETİK KURUL ONAYI	135
12. ÖZGEÇMİŞ	136

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo	Sayfa
Tablo 1. Fındık ve Diğer Ağaçta Yetişen Sert Kabuklu Meyvelerin Ortalama Besin İçeriği	8
Tablo 2. Çalışmada Kullanılan Cihazların ve Laboratuar Malzemelerinin Özellikleri	29
Tablo 3. Çalışmada Kullanılan Kimyasal Maddelerin Özellikleri ve Üretici Firmalar	30
Tablo 4. Çalışmada Kullanılan Kitler ve Üretici Firmalar	31
Tablo 5. Deney Grupları ve Yapılan Uygulamalar	32
Tablo 6. Standart Sıçan Yeminin İçeriği.	33
Tablo 7. Fındık ve Fındık Zarı İçeriği	34
Tablo 8. Johnsen Skorlama Sistemi	39
Tablo 9. Doku ve Sperm MDA Seviyesi Ölçümü İçin Yapılan Reaksiyon Karışımı	45
Tablo 10. Plazma MDA Seviyesi Ölçümü İçin Yapılan Reaksiyon Karışımı	47
Tablo 11. Plazma Testosteron Seviyesi Ölçümü İçin Yapılan Reaksiyon Karışımı	48
Tablo 12. E Vitamini Öncü İyonları ve Ürün İyonları, Çarpışma Enerjileri Ve Polarite	50
Tablo 13. Protein Seviyesi Ölçümü İçin Yapılan Reaksiyon Karışımı	51
Tablo 14. Genç hayvanların 4 haftalık deney sürecindeki ağırlık bulguları	53
Tablo 15. Yaşlı Hayvanların 4 haftalık deney sürecindeki ağırlık bulguları	53
Tablo 16. Genç Hayvanların Johnsen Skoru ve Apoptotik İndeks Bulguları	65
Tablo 17. Genç Hayvanların Semen Analizine Ait Bulguları	73
Tablo 18. Genç Hayvanların Sperm Örneklerine Ait GPx, GSH/GSSG, MDA ve E Vitamini Bulguları	77
Tablo 19. Genç Hayvanların Plazma Örneklerine Ait GPx, GSH/GSSG, MDA ve Testosteron Bulguları	80
Tablo 20. Genç Hayvanlarda Diğer Doku Örneklerine Ait GPx ve MDA Bulguları	84

Tablo 21.	Genç Kontrol ve Yaşlı Hayvanların Johnsen Skoru ve Apoptotik İndeks Bulguları	91
Tablo 22.	Genç Kontrol ve Yaşlı Hayvanların Semen Analizine Ait Bulgular	95
Tablo 23.	Genç Kontrol ve Yaşlı Hayvanların Sperm Örneklerinde Ölçülen GPx, GSH/GSSG, MDA ve E Vitamini Seviyeleri	98
Tablo 24.	Genç Kontrol ve Yaşlı Hayvanların Plazma Örneklerinde Ölçülen GPx, GSH/GSSG, MDA ve Testosteron Seviyeleri	101
Tablo 25.	Genç Kontrol ve Yaşlı Hayvanların Diğer Doku Örneklerinde Ölçülen GPx ve MDA Seviyeleri	104



RESİMLER DİZİNİ

Resim	Sayfa
Resim 1. Fındık ve Yan Ürünlerinin Resimleri	7
Resim 2. Erkek Üreme Sistemi	13
Resim 3. Erkek Sıçanların Üreme Sistemi	14
Resim 4. Pellet Yemlerin Hazırlanması Aşamasına Ait Görüntü	36
Resim 5. Testis ve Epididimisin Çıkarılmasına Ait Görüntü	38
Resim 6. Testis Dokusu Seminifer Tübül Kesiti	55
Resim 7. Epididimis Dokusu Duktus Epididimis Kesiti	58
Resim 8. Prostat Doku Kesiti	61
Resim 9. Testis Dokusu Seminifer Tübül Kesiti Apoptotik Değerlendirmesi	66
Resim 10. Epididimis Dokusu Duktus Epididimis Kesiti Apoptotik Değerlendirmesi	68
Resim 11. Prostat Dokusu Kesiti Apoptotik Değerlendirmesi	70
Resim 12. Testis Dokusu Seminifer Tübül Kesiti	86
Resim 13. Epididimis Dokusu Duktus Epididimis Kesiti	88
Resim 14. Prostat Dokusu Kesiti	89
Resim 15. Testis Dokusu Seminifer Tübül Kesiti Apoptotik Değerlendirmesi	92
Resim 16. Epididimis Dokusu Duktus Epididimis Kesiti Apoptotik Değerlendirmesi	93
Resim 17. Prostat Dokusu Kesiti Apoptotik Değerlendirmesi	94

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil	Sayfa
Şekil 1. Spermatogenezisin Aşamaları.	15
Şekil 2. Doksorubisinin Yapısı	21
Şekil 3. E vitaminin Kimyasal Yapısı	23
Şekil 4. Sperm GSH Seviyesi İçin Standart Grafiği	42
Şekil 5. Sperm GSSG Seviyesi Ölçümü İçin Standart Grafiği	44
Şekil 6. Plazma GSH Seviyesi İçin Standart Grafiği	43
Şekil 7. Plazma GSSG Seviyesi İçin Standart Grafiği	44
Şekil 8. Doku MDA Seviyesi İçin Standart Grafiği	46
Şekil 9. Plazma MDA Seviyesi Ölçümü İçin Standart Grafiği	47
Şekil 10. Plazma Testosteron Seviyesi Ölçümü İçin Standart Grafiği	48
Şekil 11. Doku ve Semen GPx ve GSSG/GSH İçin Protein Standart Grafiği	51
Şekil 12. Doku ve Semen MDA İçin Protein Standart Grafiği	52
Şekil 13. Genç Hayvanlarda Sperm Canlılık Seviyelerinin Gruplara Göre Dağılımı	74
Şekil 14. Genç Hayvanlarda Sperm Hareketlilik Seviyelerinin Gruplara Göre Dağılımı	74
Şekil 15. Genç Hayvanlarda Sperm Sayısı Seviyelerinin Gruplara Göre Dağılımı	75
Şekil 16. Genç Hayvanlarda Sperm MDA Seviyelerinin Gruplara Göre Dağılımı	78
Şekil 17. Genç Hayvanlarda Sperm E Vitamini Seviyelerinin Gruplara Göre Dağılımı	78
Şekil 18. Genç Hayvanlarda Plazma GPx Seviyelerinin Gruplara Göre Dağılımı	81
Şekil 19. Genç Hayvanlarda Plazma MDA Seviyelerinin Gruplara Göre Dağılımı	81
Şekil 20. Genç Hayvanlarda Plazma Testosteron Seviyelerinin Gruplara Göre Dağılımı	82

Şekil 21.	Genç Kontrol ve Yaşlı Hayvanlarda Sperm Canlılık Seviyelerinin Gruplara Göre Dağılımı.	96
Şekil 22.	Genç Kontrol ve Yaşlı Hayvanlarda Sperm Hareketlilik Seviyelerinin Gruplara Göre Dağılımı	96
Şekil 23.	Genç Kontrol ve Yaşlı Hayvanlarda Sperm Sayısı Seviyelerinin Gruplara Göre Dağılımı	97
Şekil 24.	Genç Kontrol ve Yaşlı Hayvanlarda Sperm GSH/GSSG Seviyelerinin Gruplara Göre Dağılımı	99
Şekil 25.	Genç Kontrol ve Yaşlı Hayvanlarda Sperm MDA Seviyelerinin Gruplara Göre Dağılımı	99
Şekil 26.	Genç Kontrol ve Yaşlı Hayvanlarda Sperm E Vitamini Seviyelerinin Gruplara Göre Dağılımı	100
Şekil 27.	Genç Kontrol ve Yaşlı Hayvanlarda Plazma MDA Seviyelerinin Gruplara Göre Dağılımı.	101
Şekil 28.	Genç Kontrol ve Yaşlı Hayvanlarda Plazma Testosteron Seviyelerinin Gruplara Göre Dağılımı	102

KISALTMALAR, SİMGELER ve FORMÜLLER DİZİNİ

Kısaltmalar

ALA	α -Linolenik Asit
ABP	Androjen Bağlayıcı Protein
BS	Bitkisel steroller
CAT	Katalaz
DNA	Deoksiribonükleik Asit
DOX	Doksorubisin
FDA	Food and Drug Administration (Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi)
FSH	Folikül Uyarıcı Hormon
GnRH	Gonadotropin Salgılatıcı Hormon
GPx	Glutasyon Peroksidaz
GSH	Glutasyon (Redükte)
GSSG	Glutasyon (Okside)
HDL-K	Yüksek-Yoğunluklu Lipoprotein Kolesterolü
LA	Linoleik Asit
LDL-K	Düşük-Yoğunluklu Lipoprotein Kolesterolü
MDA	Malondialdehit
MUFA	Tekli Doymamış Yağ Asidi
NADP(H)	Nikotinamid Adenin Dinükleotit Fosfat
NO	Nitrik Oksit
PUFA	Çoklu Doymamış Yağ Asidi
OS	Oksidatif Stres
RNA	Ribonükleik Asit
ROS	Reaktif Oksijen Türleri
SFA	Doymuş Yağ Asidi
SOD	Süperoksit Dismutaz
TAG	Triaçil Gliserol
TK	Total Kolesterol

Simgeler

α	Alfa
β	Beta
Δ	Delta
γ	Gama
μ	Mikro
δ	Sigma

Formüller

CH_3COOH	Asetik Asit
H_3PO_4	Fosforik Asit
$\text{H}_3(\text{W}_3\text{O}_{10})$	Fosfotungstik Asit
HCl	Hidroklorik Asit
$\cdot\text{OH}$	Hidroksil Radikali
O_2	Moleküler Oksijen
$\text{ROO}\cdot$	Peroksil Radikali
H_2O_2	Peroksit Radikali
KCl	Potasyum Klorür
H_2SO_4	Sülfürik Asit
$\cdot\text{O}_2^-$	Süperoksit Radikali
$\text{C}_6\text{H}_{15}\text{NO}_3$	Trietanol Amin

1. ÖZET

Fındık Tüketiminin Erkek Sıçanların Üreme Sisteminde Doksorubisin ve Yaşlanmayla Uyarılan Oksidatif Strese Etkisinin İncelenmesi

Oksidatif stres üreme sistemi fonksiyonlarının azalmasına veya infertiliteye sebep olabilir. Fındık, protein, yağ, fitosterol, lif, antioksidan, vitamin ve mineral içeriği nedeniyle sağlık üzerinde olumlu etkilere sahiptir. Çalışmamızda; erkek sıçanların üreme sisteminde doksorubisin ile uyarılan ve yaşlılıkla oluşan oksidatif strese fındığın etkilerini incelemeyi amaçladık. Çalışma grupları 48 genç, 24 yaşlı Sprague Dawley erkek sıçandan oluşturuldu. Gençler kendi içinde 6, yaşlılar kendi içinde 3 gruba ayrıldı. Genç sıçanlarda grup numaraları ve karşılık gelen diyetler şu şekildedir; standart diyet (grup 1), fındık (grup 2), doksorubisin (grup 3), doksorubisin+fındık (grup 4), doksorubisin+fındık zarı (grup 5) ve doksorubisin+E vitamini (grup 6). Yaşlı sıçanlar ise kendi içinde; standart diyet (grup 7), fındık (grup 8) ve E vitamini (grup 9) olarak gruplandırıldı. 30 günlük deney süresinin sonunda tüm hayvanlar dekapite edilerek testis, epididimis, prostat, epididimal sperm ve plazma örnekleri alındı. Testis, epididimis ve prostat doku örnekleri histopatolojik ve immünohistokimyasal olarak incelendi. Epididimal sperm analizinde sperm sayısı, motilite ve canlılık değerlendirildi. Biyokimyasal olarak plazma, sperm ve dokularda GPx, MDA, GSH/GSSG seviyeleri incelendi. 3. grubun testis, epididimis ve prostat dokularında 1. gruba göre histopatolojik hasar meydana geldi. Ayrıca, 3. grupta sperm sayısı, motilite ve canlılığı anlamlı olarak azaldı (sırasıyla $p = 0.025$, $p = 0.003$, $p = 0.028$). Fındık takviyesi yapılan 4. grupta ise 3. gruba göre histopatolojik verilerde iyileşme izlendi. Sperm sayısında, motilitesinde ve sperm E vitamini seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı artış ve sperm MDA seviyesinde azalış bulundu (sırasıyla $p = 0.021$, $p = 0.004$, $p = 0.0028$, $p = 0.004$). 7. grup ile karşılaştırıldığında 8. grubun histopatolojik bulgularında iyileşme, sperm canlılığı ve sperm E vitamini seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı artış ($p = 0.022$) ve sperm MDA seviyesinde anlamlı azalış ($p = 0.009$) bulundu. Sonuç olarak; erkek üreme sisteminde gerek doksorubisin ile oluşturulan hasarda gerekse yaşlanmaya bağlı oluşan hasarda fındığın olumlu etkilerinin olabileceği kanaatine varıldı.

Anahtar Kelimeler: Antioksidan, Fındık, Oksidatif Stres, Reprodüktif Sistem, Yaşlanma

2. SUMMARY

Investigation of the Effects of Hazelnut Consumption on Doxorubicin and Aging Induced Oxidative Stress in Reproductive Systems of Male Rats

Oxidative stress may lead to decrease in the reproductive system functions or cause infertility. Hazelnut has positive effects on health because of its protein, fat, phytosterol, fiber, antioxidant, vitamin and mineral content. In our study; we aimed to investigate the effects of hazelnut on oxidative stress induced by doxorubicin and aging in reproductive system of male rats. The study group was composed of 48 young, 24 aged Sprague Dawley male rats. The young rats were divided into 6 groups and the aged rats were divided into 3 groups. The number of groups and corresponding diets in young rats were as follow; standard diet (group 1), hazelnut (group 2), doxorubicin (group 3), doxorubicin+hazelnut (group 4), doxorubicin+hazelnut skin (group 5) and doxorubicin+vitamin E (group 6). The aged rats were grouped as standard diet (group 7), hazelnut (group 8) and vitamin E (group 9). All animals decapitated at the end of the 30 days experiment period and testes, epididymis, prostate, epididymal sperm and plasma samples were taken. Testes, epididymis and prostate tissue specimens were examined histopathologically and immunohistochemically. Sperm count, motility and viability were evaluated in epididymal sperm analysis. GPx, MDA, GSH/GSSG levels were determined in plasma, sperm and tissues. Testes, epididymis and prostate tissues in the 3rd group had histopathological damage according to the 1st group. Moreover sperm count, motility, viability and sperm vitamin E level decreased, sperm MDA level increased significantly in the 3rd group ($p= 0.025$, $p= 0.003$, $p= 0.028$, $p= 0.028$, $p= 0.004$, respectively). However histopathological improvement and significant increase in sperm count and motility was observed in the 4th group ($p= 0.021$, $p= 0.004$, respectively). There was histopathological improvement, significant rise in sperm viability and sperm vitamin E ($p= 0.022$, $p= 0.016$, respectively) and significant decrease in sperm MDA level ($p= 0.009$) in the 8th group when compared to the 7th group. As a result; it has been concluded that positive effects of hazelnut may occur in the male reproductive system in case of damage caused by either doxorubicin or aging.

Key Words: Aging, Antioxidant, Hazelnut, Oxidative Stress, Reproductive System

3. GİRİŞ ve AMAÇ

Fındık, fıstık, ceviz ve badem gibi ağaçta yetişen sert kabuklu meyveler karbohidrat, protein ve yağ içeriği bakımından değerli besin kaynaklarıdır. Sert kabuklu meyveler yüksek yağ içeriğinden dolayı (% 65-80) yüksek enerji (≈ 650 kcal/100 g) sağlarlar. İçeriğindeki yağın büyük çoğunluğu doymamış yağ asitleridir. Ayrıca vitaminler (E vitamini, B6, folik asit ve niasin), mineraller (kalsiyum, magnezyum, potasyum, selenyum ve bakır), fitosteroller (stigmasterol, kampesterol ve sitosterol), polifenoller (kateşin, resveratrol gibi) ve lif açısından zengin kaynaklardır (1). Bu meyveler içeriklerinden dolayı düzenli tüketilmeleri durumunda kan lipid profili üzerinde olumlu düzenleyici etkiye sahiptirler (2, 3). Yapılan çalışmalar bu olumlu etkilerin sadece lipid düzeylerinde değil, sahip oldukları antioksidan özelliklerle oksidasyona karşı koruduğunu da göstermiştir (4, 5). Ayrıca oleik asit, linoleik asit ve linolenik asit içeriğinden dolayı koroner hastalıklar, nörolojik hastalıklar, diyabet ve kansere karşı yararlı etkileri gösterilmiştir (6-8). 2003'de FDA (Food and Drug Administration) sahip oldukları faydalı etkilerinden dolayı sert kabuklu meyvelerin, 4 ana gıdanın yanında tüketilmesi gerektiğini belirtmiştir (9).

Fındık kalsiyum, magnezyum, fosfor, potasyum demir ve çinko başta olmak üzere iyi bir mineral kaynağıdır. Potasyumdan zengin ve sodyumdan fakir olması kan basıncı üzerinde de olumlu etkileri vurgulanmıştır (10).

Fındıkta, birçok antioksidan fenolik bileşik ve flavonoidlerin varlığı bildirilmiştir (11). Bununla birlikte fındığın dış zarının, iç meyvesine göre daha zengin fenolik bileşiklere sahip olduğu yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (11-14). Araştırmalar, zarı alınmamış fındığın daha fazla fenolik kompozisyona sahip olduğunu ve zarı alınmış fındığın antioksidan aktivitesinde azalma meydana geldiğini göstermiştir (15). Fenolik bileşikler ve flavonoidler antioksidan özelliklerinden dolayı metabolizma üzerinde gösterdikleri etkileri son yıllarda önem kazanmıştır. Çünkü antioksidan özellik gösteren bu bileşikler serbest radikalleri nötralize etme özelliğine sahip olup insanları DNA hasarlarına, kalp ve damar hastalıkları, yaşlanma vb. durumlara karşı koruyucu etki göstermektedir. Bundan dolayı fındık ve benzeri ürünler üzerine yapılan çalışmalar son yıllarda artmıştır.

Oksidatif stres, pro-oksidan ve antioksidan sistemler arasındaki dengenin oksidan sistemler lehine bozulması sonucu lipid peroksidasyonu ve reaktif oksijen ürünlerinin açığa çıkarak organizmada hücresel hasara yol açan ve birçok hastalığın patogenezinde kritik öneme sahip olan bir durumdur (16). Spermier reaktif oksijen ürünlerine karşı oldukça hassastırlar. Testislerde üretildikleri andan dışı üreme organına atıldıkları ana kadar sürekli oksitleyici ortama maruz kalırlar. Normal olarak testis gibi steroidojenik dokularda serbest radikallerin üretilmesi fizyolojik bir süreçtir. Yapılan birçok çalışma düşük miktardaki reaktif oksijen türlerinin üretiminin, sperm kapasitasyonu, sperm oositi dölleyebilme yeteneğini kazanması, akrozom reaksiyonu ve oosit füzyonu için gerekli olduğunu göstermiştir (17). Ancak reaktif oksijen ürünlerinin aşırı üretimi, spermatozoa ve seminal plazmanın antioksidan savunma sisteminin bozulmasına ve oksidatif stresin oluşmasına neden olur (18). Spermatozoada oksidatif stres sperm motilitesi ve canlılığa zarar verdiği için erkek fertilitesi ile yakından ilgilidir (19).

Birçok cinsel fonksiyon artan yaşla beraber azalmaktadır. Erkek sıçanlarda yapılan çalışmalar, yaşlı hayvanlarda cinsel davranışların yoğunluğunun azaldığını ortaya koymuştur (20). Bununla beraber çalışmalarda yaşlı erkeklerde sperm hareketliliğinin azaldığı ve anormal şekilli spermierin arttığı görülmüştür (21). Yaşlanma süreci reaktif oksijen türleri (ROS) ile antioksidan savunma arasındaki dengenin durumuyla yakından ilgilidir. Yaşlanmanın, esas olarak serbest radikallerin DNA, protein ve lipid yapısı üzerine yaptığı hasarların birikimi sonucu ortaya çıktığı düşünülmektedir (22).

Fındığın erkek üreme sistemi üzerine etkisini inceleyen bir çalışma literatürde görülmemektedir. Fındık tüketiminin erkek üreme sistemindeki oksidan-antioksidan durum üzerine etkisini göstermek amacı ile bu çalışma planlanmıştır. Çalışmamızda sıçanlarda kemoterapötik bir ilaç olan Doksorubisin ile oluşturulan oksidan hasar ve yaşlanma ile oluşan fizyolojik oksidan hasara fındık tüketiminin muhtemel etkileri histopatolojik ve biyokimyasal analizler yapılarak ortaya konulacaktır.

4. GENEL BİLGİLER

4.1. Ağaçta Yetişen Sert Kabuklu Meyveler

Ağaçta yetişen sert kabuklu meyveler genellikle bir tohum içeren ve olgunlaştıkça kabukları sertleşen, ağaçta yetişen kuru meyveler olarak bilinmektedir. En popüler ağaçta yetişen sert kabuklu meyveler fındık, ceviz, antep fıstığı, badem, brezilya cevizi, kaju fıstığı, makadamiya cevizi, pekan cevizi ve çam fıstığıdır. Yer fıstığı baklagiller ailesinden olmasına rağmen besin profili ağaçta yetişen sert kabuklu meyvelere benzediğinden bu gruptan kabul edilmektedir (23).

Ağaçta yetişen sert kabuklu meyveler dünyada insan sağlığı için önemli bir diyet bileşeni olarak kabul edilmektedir. Son yapılan çalışmalar; sert kabuklu meyve tüketimi ile azalan kardiyovasküler hastalık, diyabet (24, 25) ve kanser riski (26, 27) arasındaki ilişkiyi destekler niteliktedir. Sert kabuklu meyvelerin sağlık üzerine olumlu etkilerini inceleyen çalışmaların çoğu bu meyvelerin yağ profili üzerine yoğunlaşmaktadır. Nitekim yüksek lipid içeriğine sahip olmalarına rağmen doymuş yağ asitlerinin (SFA) düşüklüğü; tekli doymamış (MUFA) ve çoklu doymamış yağ asitlerinin (PUFA) yüksekliği ile ağaçta yetişen sert kabuklu meyveler, kalp ve damar sağlığı için olumlu etkiye sahiptirler. Özellikle yapılarında bulunan alfa linoleik asitin (ALA, n-3), antitrombotik ve antiaritmik fonksiyonlarından dolayı kardiyovasküler hastalıklarda koruyucu etki göstermektedir (28). Bununla beraber PUFA' lar oksidasyona duyarlıdır. Ancak yapılan çalışmalar ağaçta yetişen sert kabuklu meyvelerdeki bazı biyoaktif bileşiklerin, PUFA'ların pro-oksidan etkisini ortadan kaldırdığını (29, 30) ve bazı kardiyoprotektif etkileri ortaya çıkardığını göstermektedir (31). Hatta bu biyoaktif bileşiklerin, sert kabuklu meyvelerin içeriğinde bulunan MUFA, PUFA ve ALA'dan daha yüksek etkiler gösterdiği düşünülmektedir (32).

Ağaçta yetişen sert kabuklu meyveler bitkisel protein, lif, vitaminler ve minerallerin yanında fitosterol ve polifenoller açısından da zengindir. Bu meyveler iyi bir protein kaynağıdır ve yüksek oranda L-arginin içerirler. Bu amino asit endojen vazodilatör olan nitrik oksidin (NO) öncüsüdür. Bu nedenle ağaçta yetişen sert kabuklu meyvelerin tüketimi NO üzerinden vasküler reaktiviteyi iyileştirmeye yardımcı olabilir (33). Ağaçta yetişen sert kabuklu meyveler iyi birer diyet lifi kaynağıdır ve günlük lif gereksiniminin % 5-10'unu (4-11 g/100 g) karşılarlar. Aynı zamanda içeriğinde;

homosisteinin detoksifikasyonunda önemli rol oynayan, hücresel işlev için gerekli B vitamini bulunmaktadır. Yine tohumun oksidatif stresten korunması ve meyvenin oluşumu için gerekli olan antioksidan vitamin kaynakları (α ve γ - tokoferoller, C, K vitamini) ve fenolik bileşikler açısından da zengindirler. Ağaçta yetişen sert kabuklu meyveler fitokimyasallar (tanen, ellajik asit ve kurkumin), flavonoidler (luteolin, kuersetin, mirisetin, kamferol ve resveratrol), izoflavonlar (genistein and daidzein), terpenler, organosülfürik bileşikler açısından da zengin kaynaklardır (34). Aynı zamanda içeriklerinde yüksek miktarda kalsiyum, magnezyum ve potasyum gibi önemli mineraller bulunmaktadır. Bunun yanında sodyum içerikleri sıfıra yakındır. Yüksek kalsiyum, magnezyum ve potasyum alımına karşılık düşük sodyum alımı sayesinde kemik demineralizasyonuna, arteryal hipertansiyona, insülin direncine karşı koruma gösterebileceği vurgulanmaktadır (35).

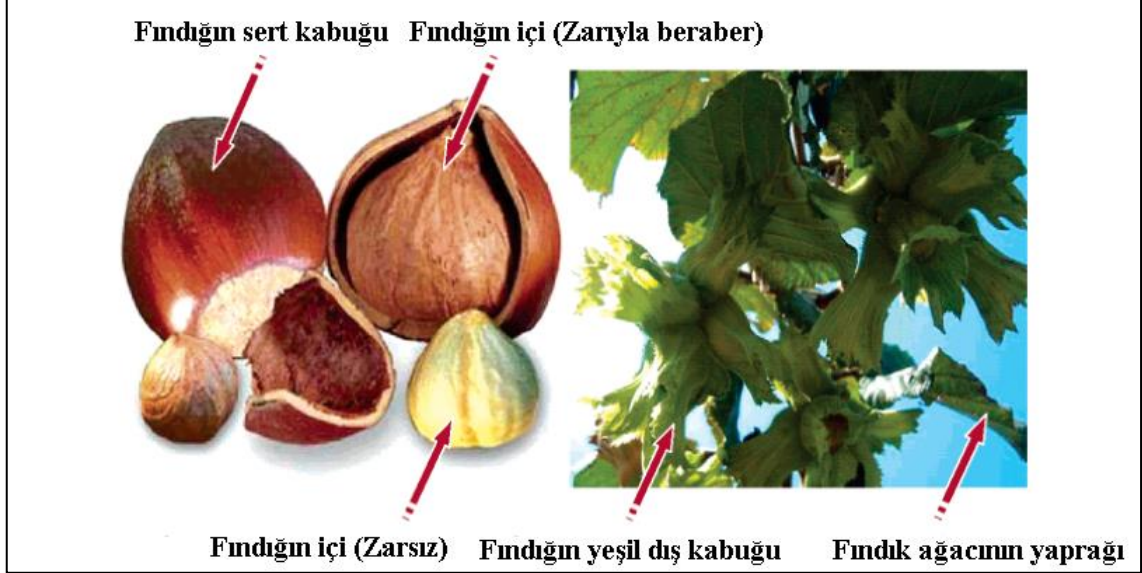
Ağaçta yetişen sert kabuklu meyveler çok çeşitli olduklarından dolayı içerikleri de meyvenin çeşidine göre değişmektedir. Örneğin ceviz yüksek miktarda antioksidan ve n-3 yağ asit kaynağı olan ALA (6.3 g/100 g) yönünden zenginken, badem, pekan cevizi ve antep fıstığı gibi diğer meyveler daha az miktarlara ALA'ya sahiptir (0.4-0.7 g/100 g). Fındık ve badem özellikle α -tokoferol açısından diğerlerine göre daha iyi kaynaklardır. Buna karşılık antep fıstığı ve ceviz γ -tokoferol yönünden zengindir (36). Ceviz kemik yapı taşı manganez açısından zengin iken brezilya cevizi özellikle antioksidan bileşik ve selenyumdan zengindir. Kaju fıstığı, makadamiya, fındık ve Brezilya cevizi diğerlerine nazaran biraz daha fazla doymuş yağ asitleri içerir.

Fındık (*Corylus avellana* L.) Betulaceae ailesine aittir. Dünyadaki en popüler ağaçta yetişen sert kabuklu meyvelerden biridir ve içeriğiyle insan sağlığı açısından büyük önem arz etmektedir. Türkiye dünyada fındığın en büyük üreticisidir, küresel üretimin yaklaşık dörtte üçüne katkıda bulunmaktadır. Bu nedenle fındık Türkiye ekonomisi için büyük önem taşımaktadır.

4.1.1. Fındık

Fındığın M.Ö. 3000 yılında Çin'de ortaya çıktığı kabul edilmekle beraber daha sonra Anadolu'ya geldiği ve Karadeniz kıyılarında kültür fındıklarının yetiştirilmeye başlandığı bilinmektedir. Ülkemizde değişik bölgelerde bulunmasına rağmen ekonomik açıdan önemli kısmı Karadeniz'de yetiştirilmektedir. Fındık ve yan ürünleri olan sert

kabuğu, iç zarı, yeşil dış kabuğu, fındık ağacının yaprağı gıda ve kozmetik sektörü dahil olmak üzere bir çok alanda ham madde olarak kullanılmaktadır. Resim 1’de fındık ve yan ürünleri gösterilmektedir (37).



Resim 1. Fındık ve yan ürünlerinin resimleri

Çeşidine bağlı olarak fındık (100 g); % 55-72 yağ, % 3-11 sindirilebilir karbohidrat, % 10-22 protein, % 5-7 diyet lifi, % 5-6 su ve % 2-3 mineral içermektedir. İç fındığın enerji değeri yaklaşık 600 cal/100 g'dır. Ayrıca B1, B2, C vitaminleriyle, çok iyi bir E vitamini kaynağıdır (25-50 mg/100 g) (38). Fındık kardiyoprotektif etkiye sahip L-arginin, folat, B6 vitamini, kalsiyum, magnezyum ve potasyum bakımından da zengindir (39). Fındık zengin MUFA kaynağıdır. İçeriğinde yaklaşık % 91 oranında MUFA, çoğunlukla oleik asit ve % 4'den az SFA bulunmaktadır. Fındık ve diğer ağaçta yetişen sert kabuklu meyvelerin ortalama besin içeriği Tablo 1’de verilmiştir (33).

Tablo 1. Fındık ve diğer ağaçta yetişen sert kabuklu meyvelerin ortalama besin içeriği

Ağaçta Yetişen Sert Kabuklu Meyveler (100 g)	Enerji (kJ)	Yağ (g)	SFA (g)	MUFA (g)	PUFA (g)	LA (g)	ALA (g)	Protein (g)	Lif (g)	Folat (µg)	BS (mg)
Fındık	2629	60.8	4.5	45.7	7.9	7.8	0.09	15.0	10.4	113	96
Badem	2418	50.6	3.9	32.2	12.2	12.2	0.0	21.3	8.8	29	120
Brezilya Cevizi	2743	66.4	15.1	24.5	20.6	20.5	0.05	14.3	8.5	22	-
Kaju Fıstığı	2314	46.4	9.2	27.3	7.8	7.7	0.15	18.2	5.9	25	158
Makadamiya cevizi	3004	75.8	12.1	58.9	1.5	1.3	0.21	7.9	6.0	11	116
Yer Fıstığı	2220	49.2	6.8	24.4	15.6	15.6	0.0	25.8	8.5	145	220
Pekan Cevizi	2889	72.0	6.2	40.8	21.6	20.6	1.0	9.2	8.4	22	102
Çam Fıstığı	2816	68.4	4.9	18.8	34.1	33.2	0.16	13.7	3.7	34	141
Antep Fıstığı	2332	44.4	5.4	23.3	13.5	13.2	0.25	20.6	9.0	51	214
Ceviz	2738	65.2	6.1	8.9	47.2	38.1	9.08	15.2	6.4	98	72

SFA, doymuş yağ asitleri; MUFA, tekli doymamış yağ asitleri; PUFA, çoklu doymamış yağ asitleri; LA, linoleik asit; ALA, α-linolenik asit; BS, bitkisel steroller

Köksal ve ark.'ının (40) çalışmaya göre fındık çeşitlerinde (100 g) başlıca yağ asitlerinin, oleik asit (% 79.4), linoleik asit (% 13), ve palmitik asit (% 5.4) olduğunu bulmuşlardır. Fındık içinde (100 g) niasin (1.45 mg), B1 vitamini (0.28 mg), B2 vitamini (0.05 mg), B6 vitamini (0.5 mg), askorbik asit (2.45 mg), folik asit (0.043 mg), retinol (3.25 mg) ve toplam E vitamini (26.9 mg) bulunmuştur. Temel amino asit olarak (100 g iç fındıkta) arginin (2003 mg), lösin (1150 mg), glutamik asit (2714 mg) ve aspartik asit (1493 mg) belirlenmişlerdir. Mineral içeriğini ise (100 g) K, Mn, Mg, Ca, Fe, Zn, Na ve Cu sırasıyla 863 mg, 186 mg, 173 mg, 5.6 mg, 4.2 mg, 2.9 mg, 2.6 mg ve 2.3 mg olarak belirtmişlerdir. Ayrıca fındık çok iyi bir selenyum kaynağıdır (60 µg/100 g). Alaşalvar ve ark. (41) fındığın 12.88 g/100 g oranında lif içerdiğini ve bunun da 2.21 g/100 g'nın da çözülebilir olduğunu bildirmişlerdir.

Fındık iyi bir fenol kaynağıdır. Shahidi ve ark.'ının (37) yaptığı çalışmalarda fındıkta beş fenolik asit (gallik asit, kafeik asit, p-kumarik asit, ferulik asit ve sinapik asit) bulunmuştur. Yakın zamanda Jakopic ve ark.'ının (42) yaptığı çalışmada bulunan dokuz flavan-3-ol, iki benzoik asit türevi, üç flavonol ve floretin glikozid de bunlara eklenmiştir. Fındık ve fındık zarı incelendiğinde; kavrulmuş fındık zarı, doğal ve kavrulmuş iç fındığa göre toplam fenolik asitleri daha fazla içermektedir. Dahası fındık zarı doğal fındık ve kavrulmuş fındık ürünlerinden yaklaşık 1.45 kat fazla toplam fenolik asit içermektedir. Bu nedenle, fenolik asitlerin çoğu kavurma işlemi sırasında doğal fındıktan alınan kavrulmuş fındık zarında bulunur (43).

Fitosteroller ve fitostanoller (bitki sterolleri ve stanolleri olarak da adlandırılır), kolesterol düşürücü etkileri nedeniyle önemli fonksiyonel gıda maddeleri olarak görev yapmaktadır. Fındıkta toplam fitosterol ve fitostanol içeriği 105-195 mg/100 g arasında değişmektedir. FDA, sterol ve stanol içeren ürünler için bir sağlık bildirgesi yayımlamıştır (44). Buradan yola çıkarak fındıktaki fitosterollerin ve fitostanollerin varlığı ve miktarı önemli olmaktadır. Crews ve ark. (45), farklı ülkelerde yetiştirilen çeşitli çiğ fındık türlerinde, 13 fitosterol ve fitostanol (kolestanol, kampesterol, kampestanol, stigmasterol, Δ^7 -kampesterol, Δ^5 , 23-stigmastadienol, kerosterol, β -sitosterol, sitostanol, Δ^5 -avenasterol, Δ^5 , 24-stigmastadienol, Δ^7 -stigmastenol ve Δ^7 -avenas) ve az miktarda kolesterol olduğunu bildirmişlerdir.

E Vitamini, alfa, beta, delta, gamma, eta ve zeta olmak üzere altı tokoferol ve altı tokotrienol içeren yağda çözünebilir bir bileşik grubudur. Tokoferoller ve tokotriyoller önemli ve eşsiz antioksidan özelliğe sahiptir. Bundan dolayı son araştırmalar artan bir ilgiyle beslenme ve sağlık üzerine biyolojik etkisi üzerine gitmektedir. Hem fındıkta hem de fındık zarında α , β , γ -tokoferol ve α , β , γ -tokotriyol bulunmaktadır. Hem fındık hem de fındık zarın en fazla α -tokoferol içermektedir. Fındıkta α - tokoferol miktarı 111-248 $\mu\text{g/g}$, β ve γ -tokoferol konsantrasyonu ise 6-47 $\mu\text{g/g}$ arasındadır. Fındık zarında ise α -tokoferolün 168–443 $\mu\text{g/g}$ arasında değiştiği bulunmuştur. Bununla beraber fındık zarındaki β ve γ -tokoferol konsantrasyonu fındıktan yaklaşık beş kat daha fazla yani 57–197 $\mu\text{g/g}$ olarak bulunmuştur (46).

4.1.2. Fındık Bitkisinin Sağlık Üzerine Etkisi

Epidemiyolojik ve klinik çalışmalar sık sık ağaçta yetişen sert kabuklu meyve tüketimi ile elverişli plazma lipid profili ve azalan kalp damar hastalıkları, miyokard enfarktüs, ateroskleroz ve diğer kronik hastalıkların riski arasında ilişki olduğuna dair kanıtlar sağlamıştır (47, 48). Bundan dolayı FDA ağaçta yetişen sert kabuklu meyveleri kalp dostu besinler olarak kabul etmiştir (9). Yüksek bir MUFA diyeti, yüksek-yoğunluklu lipoprotein kolesterolü (HDL-K) yükseltmekte ve triaçilgliserol (TAG) konsantrasyonlarını düşürme eğiliminde olduğu düşünülmektedir. İyi bir MUFA kaynağı olan fındık üzerine bu düşüncüyü destekler nitelikte çalışmalar yapılmıştır. Mercanlğıil ve ark. (49) yaptığı çalışmada kontrol ve fındık katkılı diyet sonunda total kolesterol (TK) ve düşük-yoğunluklu lipoprotein kolesterol (LDL-K) arasında anlamlı bir değişiklik bulamadılar. Ancak TAG’de bir azalma ve HDL-K seviyesinde belirgin bir artış gözlemlenildi. Fındığın yağ asidi bileşiminin kan lipid profilleri üzerinde olumlu etkilere sahip olduğuna ilişkin inandırıcı kanıtlar da mevcuttur (50, 51). Araştırma grubumuza ait bir çalışmada ise hiperkolestrolemik bireylere uygulanan fındık diyeti sonrası TK, TAG ve LDL-K önemli ölçüde düşerken HDL-K’ün arttığı bulunmuştur (3). Bu çalışmanın devamında fındık takviyesiyle plazma malondialdehit değerleri azalırken, plazma glutatyon peroksidaz ve glutatyon redüktaz aktivitesinde artış olduğu tespit edilmiştir (52). Yine aynı çalışmada fındık takviyesiyle eritrosit MDA seviyelerinde azalma ve eritrosit antioksidan enzimlerinde artış gözlenmiştir (53).

Shahidi ve ark. (37), çiğ iç fındık ve fındık yan ürünlerinin (zar, sert kabuk, yeşil yapraklı örtü ve ağaç yaprağı) etanol ekstraktlarının antioksidan etkilerini çeşitli yöntemlerle, değerlendirmiştir. Çalışmaya göre fındık zarının ve fındığın dışındaki yeşil yapraklı örtünün, insan LDL kolesterolünün oksidasyonunu iç fındıktan ve fındığın dış sert kabuğundan daha etkili bir şekilde engellediğini bulmuşlardır. Yine aynı çalışmada fındık zarının DNA hasarını iç fındıktan daha iyi önlediğini göstermişlerdir. Test edilen konsantrasyonlarda, fındık yan ürünlerinin (zar, sert kabuk, yeşil yapraklı örtü ve ağaç yaprağı) ekstraktlarının iç fındıktan daha güçlü bir etki gösterdiklerini bildirmişlerdir. Blomhoff ve ark. (5) yaptığı çalışmada ise zarlı iç fındığın total antioksidan içeriğini (TAC) 0.701 mmol/100 g, demir iyonu indirgeyici antioksidan gücü (FRAP) 0.70 mmol/100 g bulmuşlardır. Buna karşılık zarı alınmış iç fındığın TAC değerinin 0.160 mmol/100 g, FRAP değerinin de 0.16 mmol/100 g olduğunu görmüşlerdir. Diğer ağaçta yetişen sert kabuklu meyvelerde de zarın ayrılması ile antioksidan moleküllerin neredeyse yarı oranda azaldığını, bundan dolayı zarıyla birlikte meyvelerin antioksidan özelliğinin daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir.

Fındık çok iyi bir E vitamini kaynağıdır ve iyi bir antioksidan özelliğine sahiptir. Serbest radikaller birçok hastalığın oluşmasına neden olmaktadır. E vitamininin antioksidan özelliğinden dolayı bu hastalıklarda yararlı etki gösterebileceği düşünülmektedir. Günlük tavsiye edilen 25-30 g fındık tüketimi E vitamini ihtiyacını (yaklaşık 12 mg/gün) karşılamaktadır (54).

β -sitosterol'un sağlık üzerine etkileri ve bu maddelerin de fındık yağında yüksek miktarda olduğu Alaşalvar ve ark. (41) tarafından ispat edilmiştir. Sitositeroller kolesterol düşürücü etkisinin yanında bir çok kanser türlerinin (kolon, prostat ve göğüs kanseri) önlenmesinde etki göstermektedir. Ayrıca tümörün gelişmesini önler ve apoptozun oluşmasını engellemektedir (55, 56).

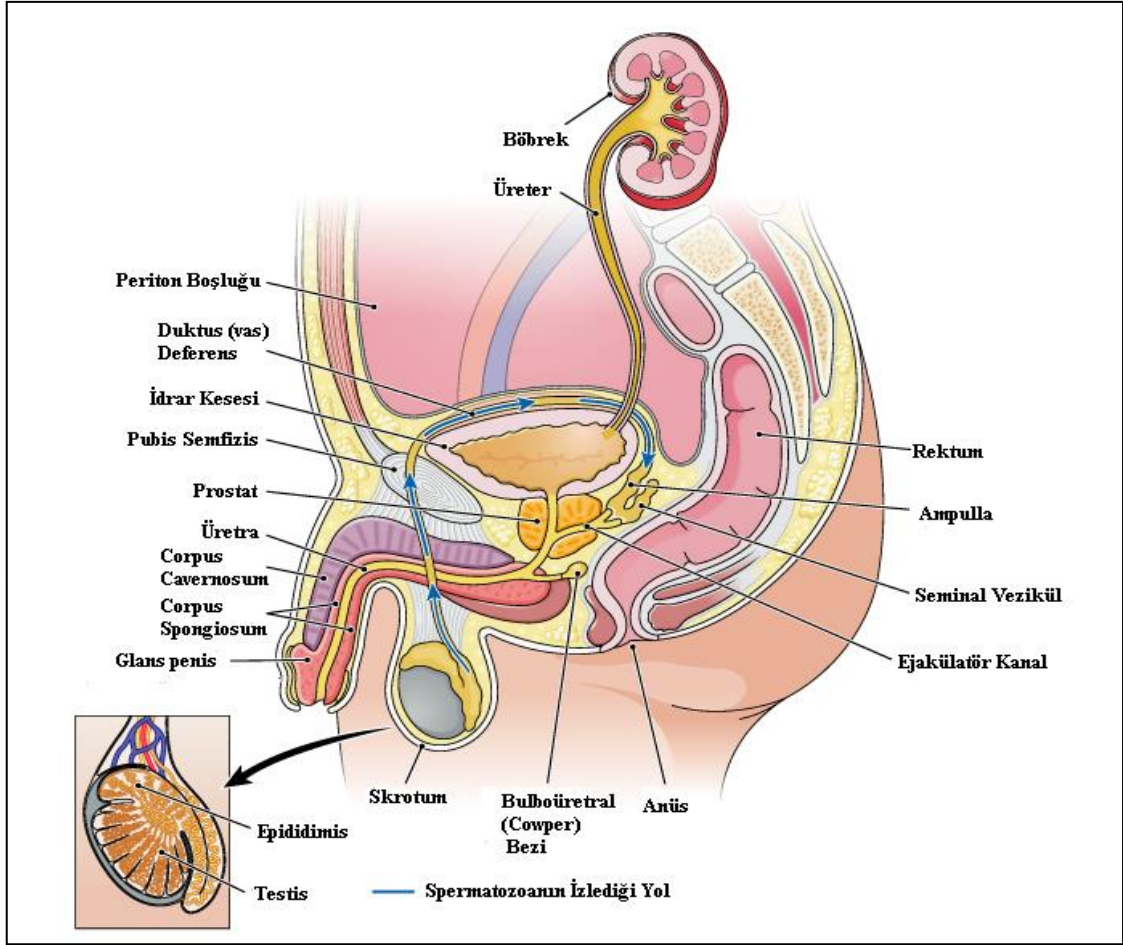
Fındık iyi bir mineral kaynağıdır, özellikle yüksek miktarda kalsiyum, magnezyum, fosfor ve potasyum içermektedir. Ayrıca iyi bir antioksidan özelliğe sahip selenyum kaynağıdır. Sodyum oranı da düşüktür. Bu minerallerin yüksek ve sodyumun düşük alımı kemik mineralizasyonuna, hipertansiyona, insülin direncine ve genel olarak kardiyovasküler hastalık riskine iyi gelmektedir (57).

4.2. Erkek Üreme Sistemi

Erkek üreme sistemi genel yapısı itibarıyla spermin üretildiği testis, spermin geçişini, olgunlaşmasını ve depolanmasını sağlayan epididimis ve semen sıvısının salgılanmasını sağlayan bezlerden, son olarak da dış genital organ olan penisten oluşmaktadır. Erkek üreme organları Resim 2’de gösterilmiştir (58).

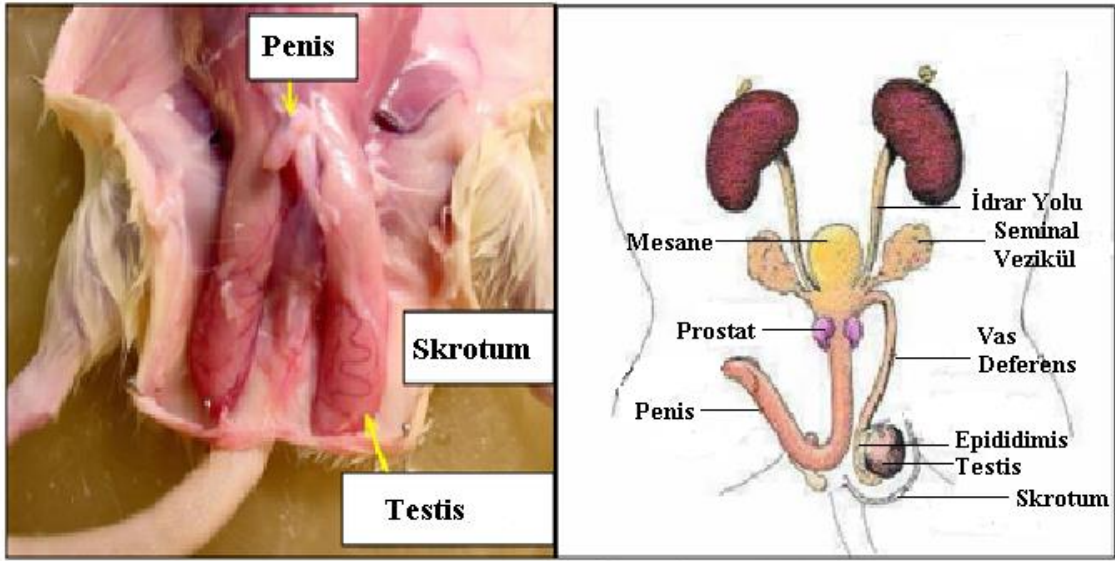
4.2.1. Testis

Testis üreme hücresi olan spermatozoonun ve erkek cinsiyet özellikleri ile erkek davranışını düzenleyen testosteron hormonunun (% 95–97) üretildiği organdır. Testis 4-5 cm uzunluğunda, 3 cm genişliğinde yaklaşık 30 ml hacimli eliptik bir organdır. Epididim; her bir testisin arka-dış tarafında, üst ucundan alt ucuna kadar uzanan, 5–6 cm uzunluğunda, üst bölümü geniş, aşağı bölümleri giderek daralan bir eklentidir. Testisler kalın, fibröz bağ dokusu tabakası olan tunica albuginea ile sarılıdır. Her bir testis 150–250 µm genişliğinde ve 30–70 cm uzunluğunda sıkıca katlanmış yüzlerce seminifer tübül içerir. Bu yapılar sperm hücrelerinin üretildiği yerlerdir. Üretilen spermier seminifer tübüleri geçerek, yaklaşık 6 m boyunda kıvrımlı bir tüpe benzeyen epididimise girer. Buradan vas deferense geçen spermier, sonrasında genişleme gösteren deferens ampullasına varırlar. Spermier prostat bezinden geçerken, prostatın her iki tarafında bulunan seminal veziküller ampullanın prostat girişine açılırlar ve hem ampulla içeriği hem de seminal vezikül içeriği ejakülatör kanalla prostata aktarılır. Prostat içeriği de ejakülatör kanala boşaltılır. Son olarak spermier üratanın başlangıcındaki bulboüretal bezlerden (Cowper bezleri) gelen mukus salgısıyla beslenerek üretra boyunca ilerler ve ejakülatla vücut dışına atılır (59).



Resim 2. Erkek üreme sistemi

Sıçan ürogenital anatomisi insan ile benzer yapı ve organlardan oluşmaktadır. Sıçan üreme sisteminin en önemli organı skrotal kese içine yerleşmiş testislerdir. Sıçan epididimisi testisin ön yüzeyinde yumak şeklinde bulunan tüplü bir organdır. Epididimisten itibaren devam eden tüp vas deferens adını alır ve üretraya açılır. Sıçan idrar torbasının her iki yanında bulunan kahverengi yumru şeklindeki bezler ise vezikula seminalis adını alır. İdrar torbasının altında üretrayı kısmen saran prostat ve vezikula seminalis semen olarak adlandırılan sıvının yapımında rol oynar. Resim 3’de erkek sıçan üreme sistemi gösterilmektedir (60).



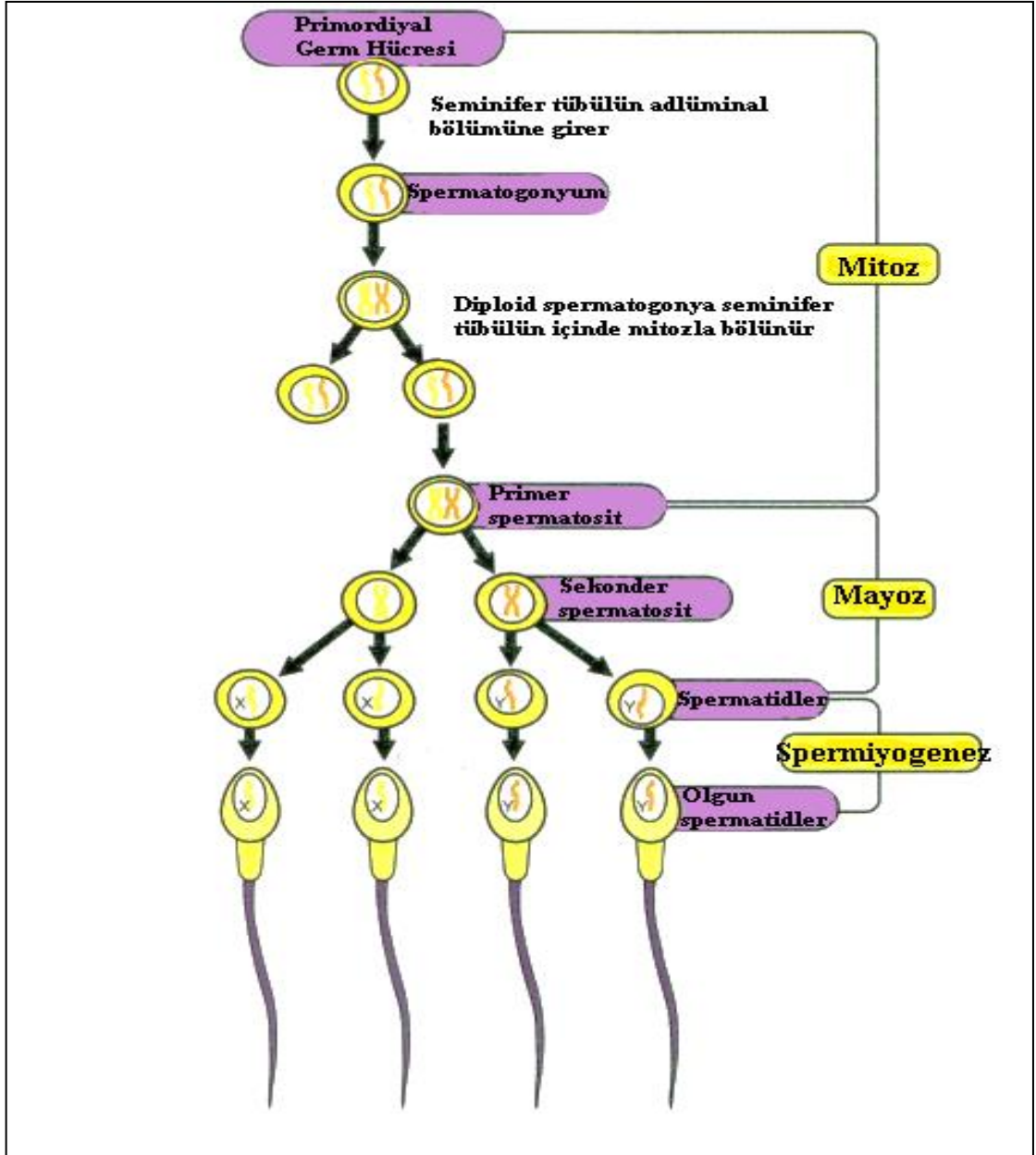
Resim 3. Erkek sıçan üreme sistemi

4.2.2. Üreme Fizyolojisi

Embriyonun gelişimi sırasında primordiyal germ hücreleri testise göç ederler. Daha sonra seminifer tübüllerin iç yüzeyinde ikili uçlu sıralar halinde bulunan spermatogonyum adı verilen olgunlaşmamış germ hücrelerine dönüşürler. Spermatogonyum puberteden başlayarak sürekli mitoz bölünmeye uğrarlar. Bundan sonra sürekli proliferasyon ve değişime uğrayarak sperm yapım aşamalarını tamamlarlar (59).

4.2.2.1. Spermatogenez

Spermatogenez olgun erkek gametlerinin (sperm) üretimi, olgunlaşması ve dişi gameti (oosit) dölleme kabiliyeti kazanması için gerekli bir dizi süreç olarak tanımlanır. Bu süreç insanda testis ve epididimiste yaklaşık 74 günde kademeli olarak gerçekleşmektedir. Erkek germ hücrelerinin spermatozoaya dönüşümü 3 ayrı evreye ayrılır. Birinci evre hücrelerin çoğalması olan mitoz evresidir. İkinci evre primer spermatositin iki mayoz bölünme ile spermatidleri oluşturmasıdır. Üçüncü evre ise spermatidlerin spermatozoaya dönüştüğü spermiyogenezdir. Sıçanlardaki spermatogenez benzer şekilde gelişir, fakat farklı olarak yaklaşık 50 ± 4 gün sürer. Spermatogenez evreleri her bir döngü için; sıçanda 14 insanda 6 basamaklıdır (61). Spermatogenezin aşamaları Şekil 1’de gösterilmiştir (62).



Şekil 1. Spermatogenezin aşamaları

Spermatogenez puberteden kısa bir süre önce başlar ve yaşlılıkla beraber azalmayla birlikte ömür boyu sürer. Bu olay seminifer tübüllerde ön hipofiz gonadotropik hormonların uyarısıyla gerçekleşir. İlk basamak spermatogonyumların seminifer tübüllerin lümenine doğru hareketidir. Bu aşamada Sertoli hücreleri büyük sitoplazmik uzantılarıyla spermatogonyumlara destek olurlar. Spermatogonyumların lümene hareketi yaklaşık 24 gün sürmektedir, bundan sonra spermatozidlere dönüşmek için mitoz bölünmeye uğrarlar. Her bir primer spermatoz daha sonra 2 adet sekonder

spermatozit oluşturmak üzere mayoz bölünmeye uğrarlar. Birkaç gün sonra bu hücreler tekrar bölünerek spermatidleri oluştururlar ve spermatidler bir dizi değişim sonunda spermatozoaya (sperm) dönüşürler (59).

Spermatidler ilk aşamada epitelimsi hücre yapısındadırlar. Ancak farklılaşma ile hücre uzar ve baş, kuyruk kısımları oluşmaya başlar. Sitoplazmik içerik inceler, golgi aygıtından oluşan bir başlık (akrozom) baş kısma yerleşir ve çekirdek yoğunlaşır. Akrozom hücrelerin lizozomlarında bulunan hiyalüronidaz ve proteinleri sindiren güçlü proteolitik enzimleri içerir. Bu enzimler spermin oosit ile füzyonunu ve fertilize etmesini sağlar (59).

Spermatid oluşumunda son evrede mitokondriler flagellum (kamçı) boyunca dizilmelerini tamamlarlar. Flagellum merkezi 9+2 mikrotübül çiftinden oluşur. Bu yapıya aksonom adı verilir ve spermin kuyruğunu oluşturur. Kuyruğun öne ve arkaya hareketi spermin motilitesini sağlar (63).

4.2.2.2. Spermatozoanın Olgunlaşması ve Ejekülasyon

Seminifer tübülde oluşan sperm daha sonra 6 m uzunluğundaki epididimise gelir. Epididimisin baş kısmına gelen spermlerin hareket kabiliyeti ve ovumu dölleme yeteneği yoktur. Epididimide geçirdiği süre boyunca hareket ve penetrasyon yeteneği kazanır. DNA yoğunlaşır; sperm başı boyutunda azalma meydana gelir; sitoplazma miktarının azalmasıyla beraber sperm hücrelerinde incelme; sperm membranında lipid, protein ve glikozilasyonunda değişiklik; dış akrozomal membranda değişiklik (dekapasitasyon) epididimiste meydana gelir. Aynı zamanda spermlerin % 50'sinden fazlası epididimisin kuyruk kısmında depolanır. Spermin epididimisten geçiş süresi yaklaşık üç gün olup bu süre yaşla ve cinsel aktiviteyle değişiklik gösterir. Epididimiste hareket yeteneğini kazanan spermler, epididimis sıvısında bulunan baskılayıcı proteinler sayesinde hareketleri engellenir (59).

Genç erişkinlerde günlük olarak yaklaşık 120 milyon sperm üretilir. Bunların çok küçük bir kısmı epididimide depolanır. Çoğunluğu fertilizasyon yeteneğini kaybetmeden 1 ay vas deferenste saklanır. Bu sürede sperm oldukça hareketsizdir. Bu etki salgı kanallarının sekresyon sıvılarının yardımıyla gerçekleşir. Ejekülasyondan sonra sperm ovumu dölleyebilme kapasitesine sahip olur. Bu olaya olgunlaşma adı

verilir. Bunu sağlayan ise Sertoli hücreslerinden ve epididimis epitel hücreslerinden sekrete edilen salgılardır (62).

Normal olarak olgun spermier flagellaların hareketiyle sıvı ortamda yaklaşık 1-4 mm/dk hızla ilerleyebilirler. Sperm hareketi ejakülat ortamında olduğu gibi nötral-hafif alkali ortamda artış gösterirken orta dereceli asidik ortamda hareketleri baskılanır ve kuvvetli asidik ortamda spermier ölür. Sperm aktivitesi sıcaklıkla beraber artış gösterir, ancak bu durumda metabolizma hızı da artacağından ömürleri kısa olacaktır. Bu yüzden spermier epididimis ve vas deferenste 1 ay canlı kalabilirken kadın genital kanalında ancak 1-2 gün canlı kalabilir.

Spermin ovumu dölleyebilmei için yardımcı bezlerden gelen salgılara ihtiyacı vardır. Bu bezlerden biri seminal veziküldür. Seminal vezikül kıvrımlı, bölümlü tübül yapısında bir bezdir. Spermier vas deferensten geçerken seminal vezikül fruktoz, sitrik asit, diğer besin maddeleri, prostaglandinler ve fibrinojen içeren mukoid salgısını bırakır. Bu sayede sperm ovumu dölleyene kadar besin elde etmiş olur. Ayrıca içeriğindeki prostaglandinler ve mukoid salgı sayesinde kadın genital organında hareket edebilmek için uygun ortamı sağlar ve ovuma hareket için gerekli ters peristaltik kasılmalara neden olur.

Prostat bezi ise sayıları 15 ila 30 arasında değişen boşaltıcı duktuslar aracılığı ile prostatik uretraya boşalan 30-50 kadar bileşik tübüloalveolar bezlerin bir araya gelmesi ile oluşur. İçeriğinde kalsiyum, sitrat iyonu, fosfat iyonu, pıhtılaşma enzimi fibrinolizin bulunur. Beyaz süt benzeri bir yapıdadır. Hafif alkali özelliğindedir. Bu özelliğinden dolayı sperm hareket ve fertilizasyon yeteneğinin artmasına katkıda bulunur.

4.2.2.3. Semen İçeriği

Erkeğin cinsel aktivitesi sırasında ejakülasyonla atılan semen; % 10 kadar vas deferensten, % 60 seminal vezikülden, % 30 prostattan gelen sıvılardan ve spermierden oluşur. Ayrıca küçük bir miktar Bulboüretal bezlerden gelen sıvıları da içerir. Semen beyazımsı, opak bir sıvı olup % 5'i spermatozoadır. 1 mL semen içeriğinde yaklaşık 100-120 milyon spermatozoon bulunur, fakat bu miktar değişkenlik gösterebilir.

4.2.2.4. Spermatogenezin Hormonal Düzenlenmesi

İster erkek olsun ister kadın cinsel işlevlerin kontrolü hipotalamustan GnRH salgısıyla başlar. Bu hormon ön hipofizi uyarak LH ve FSH hormonlarının salgılanmasına neden olur. LH testosteron salgılamasını uyarırken FSH spermatogenezini uyarır.

Testisin interstisyel alanında bulunan Leydig hücrelerinden testosteron salınımını sadece LH hormonu ile gerçekleştirir. Leydig hücreleri doğumdan birkaç hafta sonra kaybolur ve 10 yaşından sonra tekrar ortaya çıkarlar. LH uyarısı ile Leydig hücrelerinden salgılanan testosteron hormonu eğer fazla ise negatif geribildirim ile hipotalamustan GnRH hormonunun salgılanmasını baskılar. Bu da ön hipofizden LH ve FSH hormonlarının salgılanmasını azaltır.

FSH hormonu ise Sertoli hücrelerine uyarak hücrelerin büyümesine ve spermatojenik maddelerin salgılanmasına neden olur. Aynı zamanda Leydig hücrelerinden salgılanan testosteron da tübüler alana sızarak spermatogenezini uyarır. Bundan dolayı spermatogenezin gerçekleşebilmesi için hem FSH hem de testosteron hormonuna ihtiyaç vardır. Seminifer tübüllerde spermatogenez yavaşladığında ön hipofizden FSH salınımı artar. Tersisi durumda ise Sertoli hücrelerinden salınan inhibin hormonu ön hipofizden FSH salınımını baskılar. Ayrıca testosteron hormonun salgılanmasında da düzenleyici etkisi vardır (59).

4.3. Üreme Sisteminde Oksidatif Stres

Son zamanlarda oksidatif stresin idiyopatik infertiliteye yol açtığı düşünülmektedir. Dünya nüfusunun yaklaşık % 13-18'i infertilite durumundan etkilenmektedir (64). Erkek cinsiyetinin infertilite üzerine etkisi % 25-50 olduğu tahmin edilmektedir (65). Erkek infertilitesi varikozel, kriptorşidizm, enfeksiyonlar, tıkalı lezyonlar, kistik fibrozis, travma ve tümörler gibi bilinen sebeplere bağlı olarak gelişebileceği gibi hiçbir nedene bağlı olmaksızın da görülebilir. Bu durum idiyopatik infertilite adını alır ve erkek infertilitesi vakalarının yaklaşık % 30'unu oluşturur (66).

4.3.1. Sperm Hücrelerinde Reaktif Oksijen Türlerinin Fizyolojik Etkileri

Reaktif oksijen türleri normal fizyolojik süreçlerin ve hücresel metabolizmanın yan ürünleridir. Hücresel aerobik metabolizma mitokondride oksidatif fosforilasyon ile

gerçekleşir. Burada moleküler oksijenin (O_2) bir elektron alarak indirgenmesi sonucu süperoksit radikali ($\cdot O_2^-$) oluşur. Süperoksit radikali daha sonra hidrojen peroksit (H_2O_2), hidroksil radikali ($\cdot OH$) ve peroksil radikalleri ($ROOH$) de dahil olmak üzere diğer ROS'lara dönüşebilir (67, 68).

Reaktif oksijen türleri, testislerde damar tonusu ve gen düzenlenmesinde rol oynayan önemli araçlardır. Normal fizyolojik ROS seviyeleri, sperm olgunlaşması, hiperaktivasyon, kapasitasyon, kemotaksis, zona pellucida bağlanması, akrozom reaksiyonu ve sperm-oosit füzyonu için gereklidir (69, 70). Normal fizyolojik koşullarda; antioksidanlar spermde düşük oksidatif stres seviyesinin korunmasına yardımcı olur. Böylece hücrede sinyal süreçlerine ve spermatik fonksiyonlara izin verirken hücreyi ROS'un yol açtığı hasarlardan korurlar. Ancak ROS'un fazla üretilmesi veya organizmanın kendini koruma yeteneğinin azalması durumunda erkek ve dişi üreme sisteminde patolojik süreçler başlayabilir. ROS seviyeleri vücut antioksidan sisteminin kapasitesini aştığında hücrelere, dokulara veya organlara hasar vermeye başlar ve bu durum oksidatif stres (OS) olarak adlandırılır (71). ROS'lar, ilk defa MacLeod (72) tarafından erkek infertilitesinin potansiyel nedeni olarak tanımlanmıştır. Yapılan çalışmalar erkek infertilitesinin % 40'a kadar ROS'a bağlı olduğunu göstermiştir (73, 74). Son yapılan çalışmalar ise infertil erkeklerin % 30–80'inde artmış ROS düzeyleri bulmuştur (75-77). OS çeşitli mekanizmalarla infertiliteye neden olur:

1. ROS sperm hücresinin membranına (ROS saldırılarına hassas PUFA'ların miktarı fazladır) hasar verir ve bu da motilitede azalmaya ve sperm ile oosit arasındaki kaynaşmanın zorlaşmasına neden olur (78).

2. ROS mitokondriyal hasar oluştururken hücre içindeki enerji miktarı düşer ve böylece sperm hareketi engellenir (79). Engellenmiş motilite yumurtaya ulaşan daha az sperm sayısına neden olur bu da döllenme olasılığını büyük ölçüde azaltır (80).

3. ROS sperm DNA'sına hasar verir. Hem pürin hem de pirimidin bazlarına ve şeker fosfat omurgasına doğrudan saldırabilirler. Normal koşullar altında sperm DNA'sı protaminlerin yardımıyla sıkıca paketlenmiş haldedir. Böylece serbest radikallerin saldırılarından korunurlar. Spermatogenez sırasında histonların yeri önce geçiş proteinleri sonra da protaminler tarafından değiştirilir. İnfertil erkeklerde protamin eksikliği görülür ve bu da DNA'yı ROS saldırılarına karşı savunmasız bırakır (81). ROS

tarafından indüklenen silinmeler, mutasyonlar ve diğer genetik defektler yeni oluşan embriyo DNA'sını otomatik olarak etkilemektedir (82).

4.3.2. Semende Serbest Radikal Kaynakları

Erkek üreme sisteminde serbest radikallerin iki kaynağı vardır; lökositler ve olgunlaşmamış spermatozoa (83). Bunların arasından, lökositler ROS'un ana kaynağı olarak kabul edilmektedir (84). Semen örneklerinin çoğunda lökositler bulunur ve bu lökositlerin büyük çoğunluğu nötrofiller ve makrofajlardır. İnsan ejakülatında sadece lökositlerden kaynaklı ROS yoktur. Spermatozoadan da ROS üretimi olur. Spermatogenez sırasında erkek germ hücreleri, ince ve uzun şekillerini elde etmek için sitoplazmalarının çoğunu kaybederler. Açığa çıkan bu sitoplazmik kalıntılar glukoz-6-fosfat dehidrogenaz enziminden zengindir. Aynı zamanda bu enzim heksoz monofosfat yolu üzerinden NADP(H) sentezini de kontrol eder (85). NADP(H) oksidaz spermin zarında bulunur ve NADP(H)'i kullanarak ROS üretir (86). Bu nedenle morfolojisi bozuk erkek germ hücreleri, normal spermlere kıyasla daha yüksek ROS üretirler. Bu, sperm kalitesi üzerinde olumsuz bir etki yapar. Yüksek seviyede olgunlaşmamış sperm içeren semen numunelerinin kuluçka süresi uzadıkça vücut dışına atılmadan önce olgun spermlerin oksidatif stresten kaynaklı hasar riski de artar (87).

Mitokondri de ROS'un önemli bir kaynağıdır (88). Mitokondride % 1–3 oranında, oksijen indirgenerek süperoksit anyon ($\cdot\text{O}_2^-$) radikali üretilir.

Pürin katabolizmasında anahtar bir enzim olan ksantin oksidaz da spermde ROS üretiminde rol alır.

4.3.3. Semendeki Antioksidan Mekanizmalar

Antioksidanlar ve süpürücü maddeler seminal plazmada yüksek konsantrasyonlarda bulunur. Bu antioksidan sistemler enzimatik ve enzimatik olmayan şeklinde ikiye ayrılabilir. Enzimatik antioksidanlar süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz, glutatyon transferaz ve serüloplazmindir. Enzimatik olmayan antioksidanlar albümin, β -karotenler, L-karnitin, glutatyon, piruvat, taurin, hipotaurin, ubikinol, C (askorbik asit) ve E (α -tokoferol) vitaminleri ve çinkodur (89, 90).

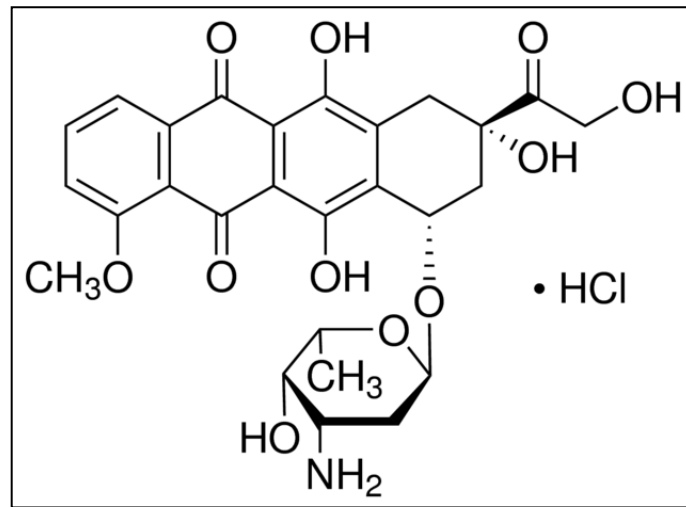
Glutatyon ROS'a karşı en önemli hücre içi korumayı sağlar. Serbest radikalleri doğrudan süpüren bir sülfidril grubunu içerir. Okside glutatyon, glutatyon redüktaz ile

nikotinamid adenin dinükleotid fosfata (NADPH) indirgenip yenilendiğinde döngü tamamlanır. Süperoksit dismutaz (SOD), iki süperoksiti $\cdot\text{O}_2^-$ 'e ve daha az toksik H_2O_2 'e indirgeyen metal içeren bir enzimdir (76). Katalaz (CAT) peroksizomlarda bulunan, H_2O_2 'i suya ve O_2 'e indirgeyerek indirgeme işlemini tamamlayan bir enzimdir. Glutasyon transferaz ve serüloplazmin veya hem oksijenaz gibi diğer enzimler H_2O_2 'i de azaltır (90). Böylece antioksidanlar düşük seviyede oksidatif strese karşı korumaya yardımcı olurken normal hücre sinyal süreçlerine, spermatik fonksiyonlara izin verilir ve ROS kaynaklı hücre hasarından kaçınılır.

4.4. Doksorubisin

Doksorubisin (DOX) ilk kez 1967 yılında bir mantar çeşidi olan *Streptomyces peucetius* kültürlerinden izole edilen geniş spektrumlu antibiyotik olup antitümöral etkiye sahiptir (91). Ticari adı adriamisin olarak bilinmektedir. Antrasiklin grubundan olan DOX daha çok meme kanseri, akciğer kanseri, akut lösemi, lenfoma, tiroid karsinomu gibi solid tümörlerin tedavisinde kullanılmaktadır.

Antrasiklin molekülü, ilaca kırmızı rengini veren tetrasiklik çekirdek ile ona glikozidik bir bağ ile bağlı bir aminoşekerden (daunosamin) oluşmaktadır. Antrasiklin grubunun tüm üyelerinin tetrasiklik halkaya komşu kinon ve hidrokinon grupları bulunmaktadır (92). Bunlar elektron alma ve verme görevi görürler. Daunorubisin molekülündeki 14. karbonun hidroksil grubu eklenmesi ile DOX meydana gelmektedir. Doksorubisinin kimyasal yapısı Şekil 2'de gösterilmiştir (93)



Şekil 2. Doksorubisinin yapısı

4.4.1. Etki Mekanizması

DOX hücrede etkisini dört şekilde göstermektedir.

1. DNA'ya bağlanarak DNA topoizomerez II-DNA-antrasiklin kompleksini oluşturur. Böylece RNA sentezi dahil DNA'nın birçok fonksiyonunu bozarak tek ve çift-zincir kırılmaları oluşturur.

2. DNA ve RNA polimerazların fonksiyonlarını engelleyerek DNA replikasyonunu ve RNA transkripsiyonunu bozar. Bu da membran bütünlüğüne etki eder (94).

3. Antrasiklinler hücre membranı ile etkileşime girerler. Membran lipidlerinin peroksidasyona uğramasına neden olarak membran potansiyelinin ve akışkanlığının azalmasına ve fonksiyonlarının değişmesine neden olurlar. Membranın iyon geçirgenliğinde artışa ve sonuç olarak hücre ölümüne sebep olur (95).

4. Mikrozomlardaki sitokrom P-450 redüktaz enzimi sayesinde antrasiklinlerin semikinon serbest radikallere indirgenmesini sağlarlar. Semikinon radikali ise oksijen ile reaksiyona girerek DNA zincirini parçalayan sırasıyla süperoksit iyonlarını ve hidrojen peroksiti oluşturur. Sonuç olarak oksidatif strese maruz kalan hücre DNA'sında hasar meydana gelir (96).

DOX mide asidinde etkinliğini kaybettiğinden ve ciddi doku hasarlarına neden olduğundan sadece intravenöz uygulanmaktadır. Kan beyin bariyerini geçemez. % 70 oranında plazma proteinleriyle taşınır ve yarı ömrü 3-30 saat arasındadır. Ana atılım yolu karaciğerden safra yoluyla olmasına rağmen bir miktar böbreklerden (% 3-10) ve dışkıyla (% 40-50) atılır.

4.4.2. Fertilite Üzerine Etkisi

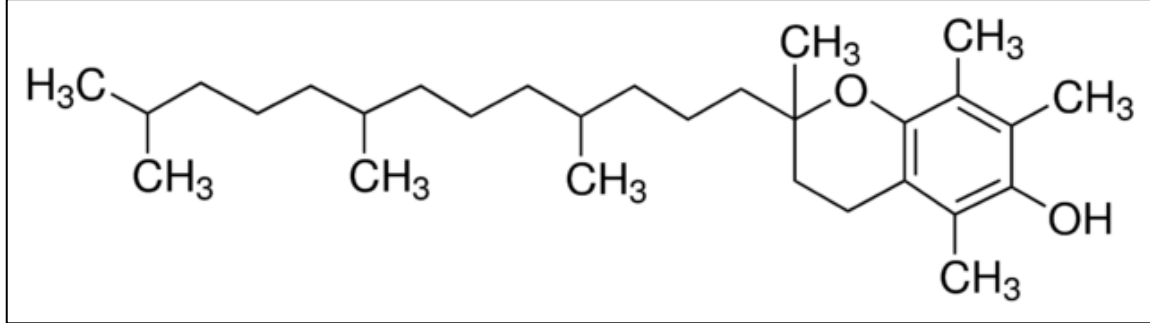
Spermatogenezin kemoterapik ilaçlara maruz kalma sonucu etkilenmesi birçok çalışma ile desteklenmiştir. Yapılan çalışmalarda DOX'in diğer onkotik ilaçlara göre kök hücre ölümünde daha etkili olduğu görülmüştür (97). DOX'in oluşturduğu toksisitenin ana nedeni serbest oksijen radikallerinin oluşumudur. Serbest oksijen radikalleri lipid peroksidasyonunu uyarır. Lipid peroksidasyonu ise erkeklerde infertilite ve sperm fonksiyon bozukluğunda önemli rol oynamaktadır (98). Bu yüzden DOX, seminifer tübül çapında atrofiye, spermatogonyumlarda şekil bozukluğuna, hücresel

apoptoza, spermin hareketinde azalmaya neden olmaktadır. Kısaca üreme hücreleri üzerinde dejeneratif etki yapmaktadır (99).

4.5. E Vitamini

Evans ve Bishop adlı bilim adamları 1922 yılında yaptıkları bir çalışmada ilk defa E vitaminini bulmalarına rağmen, 1924 yılında Sura bu maddeye E vitamini adını vermiştir. Evans ileriki çalışmalarında bu molekülün eksikliğinde ratlarda kısırlığa neden olduğunu bulmuş ve adını “tokoferol” (tokos= doğurmak, Phero= taşımak, ol= alkol manasına son ek) vermiştir (100).

E vitamini, yapısal olarak birbiriyle bağlantılı bir grup bileşiği kapsar. Bunlar temelde 2-metil-6-kroman çekirdeği içerirler ve 2. karbona bağlı 16 karbonlu yan zincir kapsarlar (Şekil 3) (101). Biyolojik olarak aktif olan yapısı fenolik hidroksil grubuna sahip aromatik halkasıdır. Antioksidan özelliği buradaki hidroksil grubundan dolayıdır. E vitamini benzeri bileşikler tokoferoller ve tokotrienoller olmak üzere iki grupta toplanırlar. Tokoferollerdeki yan zincir doymuş olup, tokotrienollerdeki yan zincir ise doymamıştır (102).



Şekil 3. E vitaminin kimyasal yapısı

Bugün alfa, beta, delta, gamma, eta ve zeta olmak üzere altı tokoferol ve altı tokotrienol bilinmektedir. Çeşitli tokoferollerin biyolojik etkinlikleri arasında farklar vardır. Doğada en yaygın şekilde bulunan ve biyolojik olarak en aktif formu olan α -tokoferoldür (103). E vitamini açık sarı renkte ve yapışkan kıvamda olan tokoferoller yağda çözünürler. E vitamini ısıya (200 °C'ye kadar), alkalilere, aside ve ışığa karşı dayanıklı olup, ultraviyole ışınları karşısında ise kolayca bozulur. Ayrıca E vitamini oksitlenince biyolojik etkisini kaybeder (104). E vitamini vücutta sentezlenemez ve yiyeceklerle beraber dışardan alınmalıdır. Dışardan alınan E vitamini taşıyıcıya ihtiyaç

duymaksızın pasif difüzyon ile barsaklara alınır ve şilomikronların yapısına katılarak dolaşıma geçer. Önce periferdeki dokulara giden E vitamini son olarak karaciğere gelir ve tekrar dolaşıma geçerek HDL yapısına katılır. Başlıca depolanma yeri yağ dokusudur.

4.5.1. Biyolojik Sistemdeki Rolü

E vitamininin biyolojik sistemdeki rolü daha çok antioksidan özelliğinden dolayıdır. Serbest radikallerin zincir tepkimelerini kırma özelliği bulunmaktadır. Özellikle biyolojik membranların fosfolipidlerinde bulunan PUFA'ları serbest radikallerin etkilerine karşı koruyarak ilk savunma hattını oluşturur. Glutatyon peroksidaz (GPx) ile birlikte serbest radikallere karşı birbirini tamamlayıcı şekilde çalışırlar, GPx oluşmuş olan peroksitleri ortadan kaldırırken E vitamini peroksitlerin sentezini engeller (105).

E vitamini, dokularda olduğu gibi, hem depolama sürecinde hem de mide barsak kanalı içindeki doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonu süresince ortaya çıkan serbest radikalleri temizler (106).

E vitamininin hücre membranlarını serbest radikallerin saldırısına karşı koruduğu bilinmektedir. Bu konuyla ilgili birçok çalışma da yapılmıştır. Çalışmalar E vitaminin sadece zincir kırıcı olarak değil radikal giderme, hasarı onarma ve endojen savunma mekanizması oluşturma fonksiyonlarına da sahip olduğunu göstermiştir (107).

E vitamini membran bütünlüğünün korunmasında önemli rol üstlenir. Yetersizliğinde bazı patolojik durumların gözlenmesi normaldir. Örneğin insanlarda uzun süren E vitamini eksikliği eritrositlerde hemoliz artışı, eritrositlerin yaşama sürelerinde kısalma ve fragilitelerinde artışa neden olmaktadır (108).

Testis gibi sterojedenik dokular oksidatif strese karşı daha hassastırlar. E vitamini bu dokular ve onlarla ilgili olan fonksiyonlar için de önemlidir. Yapılan çalışmalar E vitamini eksikliğinin infertiliteye sebep olabileceğini göstermektedir (109). Bununla beraber E vitamini takviyesinin Leydig hücrelerinin yaşam süresini uzattığını ve aktivitesini artırdığını göstermektedir (110).

E vitamininin antioksidan özelliğinden bağımsız olarak hücre içi sinyal iletiminde, gen ekspresyonunda, bazı proteinlerin aktivasyonunda veya inhibisyonunda hücre proliferasyonunda ve platelet agregasyonunda da fonksiyon göstermektedir (111).

4.6. Yaşlanma

Yaşlanma genel anlamda bir eskime bozulma olayı olarak tanımlanır. Bu çok kısa tanımdan başka tanımlar da yapılmış ve bunların tümü de yaşlanmayı zamanın fonksiyonuna bağlamıştır. Yaşlanma hücrelerden organlara kadar tüm yapılarda fonksiyonların giderek azaldığı oldukça karmaşık bir süreçtir. Yaşlanma bir organizma kadar bir hücre içinde geçerlidir, hatta yıldızlar, galaksiler gibi cansız maddelerle, kültür gibi nicel olarak ölçülmeyen kavramlar için de yaşlanmadan söz edilmektedir. Çok hücreli organizmalar hücrelerden yapıldığına göre vücudun yaşlanmasından sorumlu olan birimlerin hücreler olup olmadığı sorgulanmıştır. Yaşlanmanın nasıl gerçekleştiği ile ilgili birçok teori vardır. Genel olarak bu teoriler programlı bir gelişim olduğu görüşündedirler (112).

4.6.1. Yaşlanma Teorileri

Yaşlanma ve yaşlanma ile ilgili süreçler üzerine yapılan geniş çaplı araştırmalar, yaşlanma teorilerin bütünüyle gözden geçirilmesinin neredeyse imkansız olduğunu ortaya çıkarmaktadır. Bununla birlikte, bunların hepsi değilse de çoğu iki kategoriye ayrılabilir: a) program teorileri b) hasar teorileri. Her iki grubun bazı unsurlarını içeren üçüncü bir kategori ‘kombine teori’ de tanımlanabilir (113). Üçüncü kategori son zamanlarda daha fazla kabul görmektedir (114-116). Program teorisi organizmanın içinde var olan kontrol mekanizmasıdır. Büyüme ve gelişme ilişkili genlerin düzenlenmesi ile ilgilidir. Hasar teorisi ise kontrol mekanizması yoktur ve çevresel etkenler etkilidir. Çalışma hipotezi ne olursa olsun, yaşlanmaya yönelik tek bir sebebin var olduğu hipotezi yanlıştır.

Program teorisi: Genetik ve genetik olmayan faktörlerin yaşlanmaya olan etkileri belirsizliğini koruyor olsa da, genler ve yaşlılık arasında bir ilişki bulunmaktadır. Programlanmış teorilere göre, bir iç biyolojik saat, art arda genleri açıp kapatarak gelişme, büyüme, olgunluk ve yaşlanmayı düzenlemektedir (117). Her tür canlının kendine göre az çok belirlenmiş bir ortalama ömrünün bulunması da bu teoriyi desteklemektedir. Hayflick ve ark.’nın hücre kültürü ortamında insan fibroblastlarının

yaklaşık 50 hücre bölünmesinden sonra bölünmeyi durdurduğunu bulmuşlardır. Bunun sonucunda canlılarda genetik saatin replikasyon sayısına bağlı olduğunu söylemişlerdir (118). Replikasyonun da telomerik DNA ile ilişkili olduğu, yapılan araştırmalar sonunda bulunmuştur. Telomerler, kromozomlarımızın uçlarında bulunan tekrarlı DNA dizileridir. Belirli proteinlerle birlikte kromozom uçlarını kapatarak nükleazlar tarafından saldırıya uğramasını engellerler ve yapısal bütünlüğü korurlar. Normal somatik hücresindeki telomerler her hücre bölünmesinde kısalırlar. Telomer kısalması kritik uzunluğa geldiğinde hücre daha fazla bölünemez. Bu süreç yaşlanmayla sonuçlanır. Telomer kısalmasını önleyen enzim olan telomeraz; germ, kök ve kanser hücrelerinden eksprese edilir ancak normal somatik hücrelerde bulunmamaktadır. Hücre bölünmesi ve telomerler arasındaki bağlantı, telomeraz enzimini yoğun bir araştırma alanı haline getirmektedir. Yara iyileşmesi ve yaşlanmayı yavaşlatmak için telomeraz enzimlerinin yararlı olabileceği düşünülmektedir (119).

Hasar teorisi: Yaşlılık zamanla biriken kaçınılmaz küçük rastgele değişiklikler ve vücudun onarım mekanizmalarının hasarı gidermemesi sonucu oluşmaktadır. Sonuçta biriken hasar hücreleri ve dokuları bozmakta ve herhangi bir organın işlevi yaşla beraber azalmaktadır. Hasar teorileri arasında oksidatif hasar ön plana çıkmaktadır (120). Bu teori daha sonra yaşlanma süreciyle ilgili serbest radikal reaksiyonlarının çoğunun başlatılmasından sorumlu olarak mitokondrinin belirlenmesiyle 1972’de revize edildi (121). Bu teoriye göre, artmış metabolizmaya dayalı oksidatif stres, yaşlılık ile ilişkili çeşitli kronik hastalıklarda önemli bir role sahiptir. Hücrelerde serbest radikal hasarının birikmesi nedeniyle organizmalar yaşlanır.

Yaşlanan memeliler, yüksek miktarda oksidasyona uğramış lipid ve proteinlerin yanında hasar görmüş veya mutasyona uğramış DNA’ya (özellikle mitokondriyal DNA) sahiptirler. Oksijen tüketimi, ATP’nin mitokondride üretimi ve serbest radikal üretimi birbirine bağlı işlemlerdir. Yani aslında hücrelerin normal fizyolojik fonksiyonlarını (büyüme, apoptoz ve nörotransmisyonunda görevli sinyal molekülleri) yerine getirebilmeleri için belli bir miktar ROS üretimine ihtiyaçları vardır. Ancak yaşlılıkla beraber bu ROS miktarları artar ve bunların sebep olduğu hasarları engellemeye çalışan antioksidan sistemler yetersiz kalır (116). Yaşlanmadaki temel prensibin bu oksidan-antioksidan dengenin yaşlılıkla beraber bozulması olduğu düşünülmektedir (122).

Mitokondrial DNA'nın mutasyon oranı, nükleer DNA'nın mutasyon oranından on kat daha fazladır. Çünkü mitokondriyal DNA (mtDNA) elektron taşıma sisteminden dolayı sürekli olarak ROS'a maruz kalır. Ayrıca çekirdek DNA'sındaki gibi düzeltme ve etkin DNA onarım mekanizması yoktur. Bu yüzden mtDNA ROS saldırısına karşı daha savunmasızdır (116) ve mutasyonlara açıktır. mtDNA elektron taşıma sisteminin proteinlerini kodladığından dolayı mtDNA mutasyonu sonucunda elektron transferinde ve ATP sentezinde azalma meydana gelir. ATP sentezindeki bu azalma daha fazla ROS kaçağına neden olur. Bu bir döngü şeklinde devam eder. Bu kısır döngü teorisi, bazı bilim adamları tarafından sorgulanmaktadır. Çünkü hasarlı mitokondri otofaji ile yıkılırken, daha az hasarlı mitokondri (daha az ATP ve daha az süperoksit üretir) kendilerini çoğaltmak için kalırlar (123). Ancak otofajinin fonksiyonunu kaybetmiş mitokondriyi yok etme etkinliği de yaşla birlikte azalır, daha yüksek seviyelerde süperoksit üreten daha fazla mitokondriye neden olur. Daha yaşlı organizmaların mitokondri sayısı daha azdır, daha büyüktür, daha az enerji ve süperoksit üretir. Serbest radikaller, daha sonra hücre yaşlanmasına, ölümle ilişkili yollara ve pro-inflamatuar gen ekspresyonuna müdahale eden sinyallerin yanıtlarında yer alabilir. Bu enflamasyon basamakları yaşlanma sırasında daha aktiftir ve kansere, kardiyovasküler hastalıklara, artrite ve nörodejeneratif hastalıklara benzer şekilde yaşa bağlı patolojilerle bağlantılıdır (124).

Mitokondri dışı oksidan madde kaynakları arasında fenton reaksiyonu, mikrozomal sitokrom p450 enzimleri, fagositoz yapan hücrelerin respiratuar saldırısı ve peroksizomal β -oksidasyon sayılabilir. Bu yollarla üretilen oksidan maddelerin yaşlılıkla ilgili bazı hastalık ve durumlarda özgül rolleri olabilir. Örneğin, ilaç metabolizmasında görevli olan sitokrom p450 enzimleri yaşlanma ile birlikte azalır. Bu da ilaç reaksiyonları ve toksisitelerinin yaşlılıkta daha sık görülmesinden sorumlu olabilir.

4.6.2. Yaşlılık ve Fertilite İlişkisi

Cinsel fonksiyonlar artan yaşla beraber azalmaktadır. Erkek sıçanlarda yapılan çalışmalar yaşlı hayvanlarda cinsel davranış yoğunluğunun azaldığını göstermektedir (20). Bunun bir nedeni yaşlandıkça motor fonksiyonların yavaşlaması olabilir (125). Yaşlanma ile sadece cinsel davranışlar azalmaz, ejakülasyon kalitesi de düşer. 50

yaşından büyük erkeklerde ejakülat hacmi azalır, ancak sperm konsantrasyonu yaşla değişmez (126). Sperm hareketliliği yaşla birlikte azalır ve anormal şekilli sperm oranları artar (21). Buna karşılık akrozom reaksiyonu ve kromatin yoğunlaşması gibi fonksiyonlar değişmez.

Yaşlanma, erkek üreme sistemi organları ve dokularını etkilemektedir ve bu değişiklikler belirli bir yaş sınırı olmadan kademeli olarak gelişmektedir. Yaşlanmanın etkilerinden biri seminiferöz epiteli azalmasına paralel olarak seminifer tübülün bazal membranı kalınlaştırması ve testislerin vaskülarizasyonunu azaltırken Sertoli ve Leydig hücre kaybının da buna eşlik etmesidir. Bu değişikliklerden dolayı testis başına düşen günlük sperm üretimi yaşla azalmaktadır (127). Yukarıda bahsedilen testiküler değişiklikler çoğunlukla testiküler histomorfolojide değil aynı zamanda üreme hormonlarında da değişiklikler meydana getirir. Sertoli hücrelerinin miktarının azalmasına bağlı olarak; FSH düzeyleri 40-70 yaş arasındaki erkeklerde inhibin B’de bir düşüş ve aynı zamanda aktivin A’da bir artış ile birlikte yalnızca biraz artmaktadır. Yaşlanma aynı zamanda LH’a karşı Leydig hücrelerinin tepkisini de etkilerken, LH salınımı da azalır (128).

Doğal olarak, üreme sisteminin enfeksiyonları ilerleyen yaşla birikir. Aksesuar bezlerdeki enfeksiyon yoğunluğu, 25 yaşındaki erkeklerde % 6’da iken 40 yaşın üzerindeki hastalarda % 14’e yükseldiği görülmüştür (129). Aksesuar bezlerde meydana gelen enfeksiyonların, yaşlılıkla beraber gelişen semen hacmi ve seminal fruktoz konsantrasyonunu azalmaya katkı sağladığı düşünülmektedir (130). Bunlara ek epididimiste yaşa bağlı olarak gelişen değişiklikler, spermin epididimal olgunlaşmasının önemli bir parçası olan ve motiliteyi sağlayacak enerjinin kaynağı mitokondrilerin işlevini bozmaktadır (131).

Bu çalışma; erkek üreme sisteminde ilaçla (DOX) oluşturulan ve yaşlılıktan dolayı fizyolojik olarak gelişen oksidatif hasarı gösterebilmek ve fındığın bu hasar üzerine etkisini değerlendirmek için planlanmıştır.

5. GEREÇ VE YÖNTEM

5.1. Gereçler

5.1.1. Kullanılan Deney Hayvanları

Çalışmamızda KTÜ Tıp Fakültesi Cerrahi Araştırma Merkezi'nden temin edilen Sprague Dawley ırkı 72 adet üreme olgunluğuna erişmiş erkek sıçan kullanıldı. Bunların 48 adedi 3-5 aylık (350-450 g) genç, 24 adedi 15-18 aylık (450-550 g) yaşlı hayvanlardan seçildi.

5.1.2. Kullanılan Cihaz, Alet ve Malzemeler

Bu tez çalışmasında kullanılan cihazlar, laboratuvar aletleri ve malzemeleri üretici firmaları ile birlikte Tablo 2'de listelenmiştir.

Tablo 2. Çalışmada kullanılan cihazların ve laboratuvar malzemelerinin özellikleri

Kullanılan Cihaz, Alet ve Malzeme	Marka/Model
Hassas analitik terazi	Kern-Sohn-GmbH, PCB-800-1
Hassas analitik terazi	Mettler Toledo AB204-S
Santrifüj	Eppendorf 5804
Buzdolabı (+4°C)	Altus
Derin dondurucular (-20°C, -80°C)	Vestel, Thermo Electron Corporation
Etüv (37°C)	Heraeus B12, 3.1 Kendrol
Çalkalayıcı inkübatör	Nüve SL 350
Manyetik Karıştırıcı	Termal
pH-metre	Hanna Instruments, HI 9321
Mikropleyt okuyucu	Molecular Devices
Soğutmalı santrifüj	Beckman Coulter
Mikropleyt yıkayıcısı	Biotek
Homojenizatör	IKA- ultra turrax T 18
Rotary mikrotom	Lecia RM 2155
Işık mikroskopu	Olympus BX-51
Paraffin dispenser	Lipshaw
Benmari	Lipshaw
Işık mikroskopu	Olympus, DP 71
Makler Counting Chamber	Sefi-Medical Instrument
Çeşitli hacimlerde otomatik pipetler	Eppendorf
Liyofilizasyon cihazı	CHRIST, 101541
Sonikasyon cihazı	Sonics & Material Inc., VCX 130
Sıvı kromatografisi tandem kütle spektrometresi (LC-MS)	Thermo Scientific TSQ Acecess Max Triple Stage Quadrupole Mass Spectrometer (Thermo Scientific, San Jose, CA)

5.1.3. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Çalışmada kullanılan kimyasal maddeler ve üretici firmaları Tablo 3’de verilmiştir.

Tablo 3. Çalışmada kullanılan kimyasal maddelerin özellikleri ve üretici firmalar

Kullanılan Kimyasal Maddeler	Firma, Kodu ve Saflığı
Doksorubisin (Adriamisin)	Saba, A039512
α -Tokoferol asetat	Merck, 500862
Tris-baz	Sigma, T1503 ($\geq$ %99.9)
Fosfat tamponu (PBS) tablet	Sigma, P4417
Etilen diamin tetra asetik asit (EDTA)	Merck, 8421A036 802 (%99)
1,4-Ditiyotreitöl	Merck, 3483-12-3 (%99)
Triton X-100	Merck, K2351869 ($>$ %95)
Potasyum klorür (KCl)	Sigma, P9333 ($\geq$ %99)
Fosforik asit (H_3PO_4)	Sigma, 04107 (%85-88)
Tiyobarbütirik asit (TBA)	Sigma-Aldrich, T5500 ($\geq$ %98)
Glasiyel asetik asit (CH_3COOH)	Sigma-Aldrich, 27225 (%99.8-100.5)
1,1,3,3-Tetrametoksipropan	Sigma-Aldrich, 108383 (%99)
Hidroklorik asit (HCl)	Merck, 4600005334 (%37)
Meta-fosforik asit	Sigma-Aldrich, 239275 (%33.5-36.5)
Trietanol amin ($C_6H_{15}NO_3$)	Sigma, 90279 ($\geq$ %99)
Sülfürik asit (H_2SO_4)	Carlo-Erba, 306657 (%98)
Fosfotungstik asit ($H_3(W_3O_{10})_4 \cdot H_2O$)	Sigma-Aldrich, P4006
Coomassi Brilliant Blue G.250	Serva, 35050 (%91)
Sığır serum albümini (BSA)	Sigma, A6003 ($\geq$ %96)
Etanol	Sigma-Aldrich, 34870 (%95)
Formaldehit	Sigma, F8775 (for molecular biology)
Absolüt Etanol	JT Baker, 2606-QM (%99.5)
% 96’lık Etil Alkol	Aytaş, 200-578-6 (%96)
Ksilen	Merck, 109843
3-3’ Diaminobenzidine (DAB) enhanced Liquid Substrate System Tetrahydrochloride	Lab Vision–Thermo, TA-125- HD
Large Volume Ultra V Block	Lab Vision, TA-125-UB
Hydrogen Peroxide Block	Lab Vision, TA-125-HP
Ultravision Detection System Large Volume Anti-Polyvalent, HRP (RTV)	Lab Vision–Thermo, TA-125- HD
Entellan	Merck, 107691
Hematoksilen	Bio-optica, 05-06002/L
Eozin	Atom Scientific, RRSP39-E ($>$ %99%)
Metanol	Sigma-Aldrich, 34860 ($\geq$ %99.9)
Asetonitril	Sigma-Aldrich, 271004 ($\geq$ %99.8)
Formik asit	Sigma-Aldrich, 33015 ($\geq$ %98)

5.1.4. Kullanılan Ticari Kitler

Çalışmada kullanılan ticari kitler ve üretici firmaları Tablo 4’te sunulmuştur.

Tablo 4. Çalışmada kullanılan kitler ve üretici firmalar

Kullanılan Kitler	Üretici firma ve Kodu
GPx spektrofotometrik kit	Cayman Chemical Company, 0473965, USA
GSH/GSSG spektrofotometrik kit	Cayman Chemical Company, 0474193, USA
Testosteron ELISA kit	Cayman Chemical Company, 0473391, USA
İn situ Cell Death Detection Kit (50 testlik)	Roche 11 684 795 910, Germany

5.2. Yöntemler

Bu çalışmanın yürütülebilmesi için öncelikle Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Bilimsel Araştırma Değerlendirme Komisyonu’ndan 04.03.2015 tarihli, 2015/04 toplantı ve 6 karar no’lu onay alındı (Bkz. Etik Kurul Kararı). Çalışmanın histopatolojik kısmı KTÜ Tıp Fakültesi Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı araştırma laboratuvarının imkanları kullanılarak yürütüldü. Biyokimyasal analizler ise KTÜ Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı araştırma laboratuvarında gerçekleştirildi. Çalışmanın hayvan uygulamaları Kasım 2015-Mart 2016 tarihleri arasında Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Cerrahi Araştırma Merkezi’nde gerçekleştirildi. Çalışma KTÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Birimince (BAP-01 Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Projeleri, Proje No: TSA - 2015 - 5262) desteklendi.

5.2.1. Çalışma Grubunun Oluşturulması

Çalışma grubu Sprague Dawley ırkı 72 adet erkek sıçandan oluşmaktadır. Bunların 48 adedi 3-5 aylık (350-450 g) genç, 24 adedi 15-18 aylık (450-550 g) yaşlı hayvanlardan seçildi. Bu sıçanlar KTÜ Tıp Fakültesi Cerrahi Araştırma Merkezi’nden temin edildi. Deneysel çalışma için sıçanlar 12 saat karanlık 12 saat aydınlık ortam sağlanarak aynı yerde barındırıldı ve beslendi. Hayvanlar 1 hafta adaptasyon sürecine tabi tutuldu, yem ve suları *ad libitum* olarak verildi. Daha sonra genç ve yaşlı sıçanlar kendi aralarında rastgele aşağıdaki gibi gruplara bölündü (n=8). Tablo 5’te deney grupları ve yapılan uygulamalar verilmiştir.

Tablo 5. Deney grupları ve yapılan uygulamalar

Genç Hayvan Grupları	Uygulama
1.Grup (Kontrol)	Standart hayvan yemi ile beslendi.
2.Grup (Fındık)	Standart hayvan yemine günlük 3 g/kg olacak şekilde fındık ilave edilmiş yem ile beslendi.
3.Grup (DOX)	Standart hayvan yemi ile beslendi ve 1., 7., 14., 21. ve 28. günlerde 3 mg/kg olacak şekilde intraperitoneal doksorubisin enjeksiyonu yapıldı.
4.Grup (DOX + Fındık)	Standart hayvan yemine günlük 3 g/kg olacak şekilde fındık ilave edilmiş yem ile beslendi ve 1., 7., 14., 21. ve 28. günlerde 3 mg/kg olacak şekilde intraperitoneal doksorubisin enjeksiyonu yapıldı.
5.Grup (DOX + Fındık Zarı)	Standart hayvan yemine günlük 3 g/kg olacak şekilde fındık zarı ilave edilmiş yem ile beslendi ve 1., 7., 14., 21. ve 28. günlerde 3 mg/kg olacak şekilde intraperitoneal doksorubisin enjeksiyonu yapıldı.
6.Grup (DOX + E Vitamini)	Standart hayvan yemi ile beslendi, günlük 50 mg/kg α - tokoferol asetat <i>ad libitum</i> olarak verildi ve 1., 7., 14., 21. ve 28. günlerde 3 mg/kg olacak şekilde intraperitoneal doksorubisin enjeksiyonu yapıldı.
Yaşlı Hayvan Grupları	
7.Grup (Kontrol)	Standart hayvan yemi ile beslendi.
8.Grup (Fındık)	Standart hayvan yemine günlük 3 g/kg olacak şekilde fındık ilave edilmiş yem ile beslendi.
9.Grup (E Vitamini)	Standart hayvan yemi ile beslendi ve günlük 50 mg/kg α - tokoferol asetat <i>ad libitum</i> olarak verildi.

Sıçanlara Bayramoğlu Yem ve Un Sanayi Ticaret A.Ş.’den temin edilen standart hayvan yemi verildi. Standart yem içeriği Tablo 6’da verilmiştir. Fındık katkılı ve fındık zarı katkılı yem ise standart yeme fındık veya fındık zarı eklenerek kendi imkanlarımızla laboratuvarımızda hazırlandı. Bu yemlerin hazırlanışı bölüm 5.2.2.’de açıklanmıştır.

Tablo 6. Standart sıçan yeminin içeriği

Standart yem içeriği	%g
Nem	12.8
Ham Protein	23.0
Ham Yağ	2.8
Ham Selüloz	5.0
Ham Kül	7.1
Sodyum	0.50
Katkı Maddeleri	mg / Kg
A Vitamini	15000
Manganez	17
Demir	375.58
Çinko	151.53
Bakır	33.51
Kobalt	0.41
Selenyum	1.07
İyot	2.00
Diğer Bileşenler	
Mısır, soya fasulyesi küspesi, ayçiçeği tohumu küspesi, mısır glütenu, şeker pancarı melası, kalsiyum karbonat, mısır kepeği, sodyum klorür, vitamin ve mineral	

5.2.2. Fındık ve Fındık Zarı Katkılı Yemin Hazırlanması

Standart yeme ilave edilecek fındık, sıçanların ağırlık ve yem tüketme miktarına bağlı olarak hesaplandı. Sıçanların metabolizmasının insan metabolizmasından 7 kat hızlı çalıştığı (132) göz önüne alınarak yeme karıştırılacak fındık miktarı günlük 3 g/kg olacak şekilde belirlendi (133). Bu miktar, insanların tüketmesi için önerilen 30 g/gün veya 0.4 g/kg eşdeğer miktara denk gelmektedir (134-136). Genç sıçanların günlük yem tüketimi yaklaşık 18-20 g olduğu için genç hayvanların günlük yemi 18.95 g yeme 1.05 g fındık ilave edilerek hazırlandı. Yaşlı hayvanlar genç hayvanlara göre daha ağır ve yem tüketimleri de fazla olduğu için (yaklaşık 23-25 g) yaşlı hayvanların günlük yemi 23.65 g yeme 1.35 g fındık eklenerek hazırlandı. Çalışmamızda Giresun'un Görele ilçesinin Tepeköy köyünden temin edilen 56 randıman Giresun Tombul Fındık kullanıldı. Tombul fındık ve fındık zarının içeriği Tablo 7'de gösterilmiştir (46, 41, 137). Standart yem öğütülerek toz haline getirildi. Kavrulmamış doğal fındık da robottan geçirilerek bu yeme ilave edildi. Hazırlanan yeme, miktarının % 30'u kadar su eklenerek bulamaç haline getirildi. Bulamaç haline getirilen yem kalıplara döküldü. Bunun için 35 x 37 cm boyutlarında, 22 mm kalınlığında sıkıştırılmış MDF plakaları üzerine CNC lazer kesicisiyle 16 mm çapında 14 x 15 = 210 adet kuyucuk bulunan

kalıplar hazırlatıldı. Yem hazırlamak için kullanılan kalıp ve yemler Resim 4’de görülmektedir. Kalıba dökülen fındık katkılı yemler 48 saat 60 °C’de kurumaya bırakıldı. Kuruduktan sonra kalıptan çıkarılarak +4 °C’de saklandı. Fındık zarı katkılı yem için fındıklar kırılıp sert kabuklarından ayrıldı. İç fındıklar 140 °C’de 30 dk kavruldu ve dış zarları ayıklandı (138). Fındık katkılı yem için kullanılan miktarlar fındık zarı katkılı yem için de kullanıldı. Fındık zarı robottan geçirilerek toz haline getirildi ve yine toz haline getirilen standart yeme ilave edildi. Hazırlanan yeme miktarının % 30’u kadar su eklenerek bulamaç haline getirildi. Bulamaç haline getirilen yeme fındık katkılı yemi hazırlamak için yapılan işlemlerin aynısı uygulandı. Fındık ve fındık zarı katkılı yemler ihtiyaca göre haftalık olarak taze hazırlandı.

Tablo 7. Fındık ve fındık zarının içeriği

	Giresun Tombul Fındığı	Fındık zarı
Enerji	631 kcal	-
Karbohidrat	17.30 g/100g	-
Protein	15.35 g/100g	% 8.2
Diyet Lifi	12.9 g/100g	% 10.0
Yağ	61.21 g/100g	% 14.5
C16:0 Palmitik Asit (%)	7.8	6.8
C18:0 Stearik Asit (%)	3.8	1.2
C18:1 Oleik Asit (%)	76.1	75.2
C18:2 Linoleik Asit (%)	12.3	16.2
Total Tokoferoller (µg/g)	281.7	296.1
α-Tokoferol (µg/g)	248.3	207.0
β+ γ Tokoferol (µg/g)	33.5	89.1

(Fındık zarı için enerji ve karbohidrat içeriği ile ilgili bir veri bulunamamıştır.)

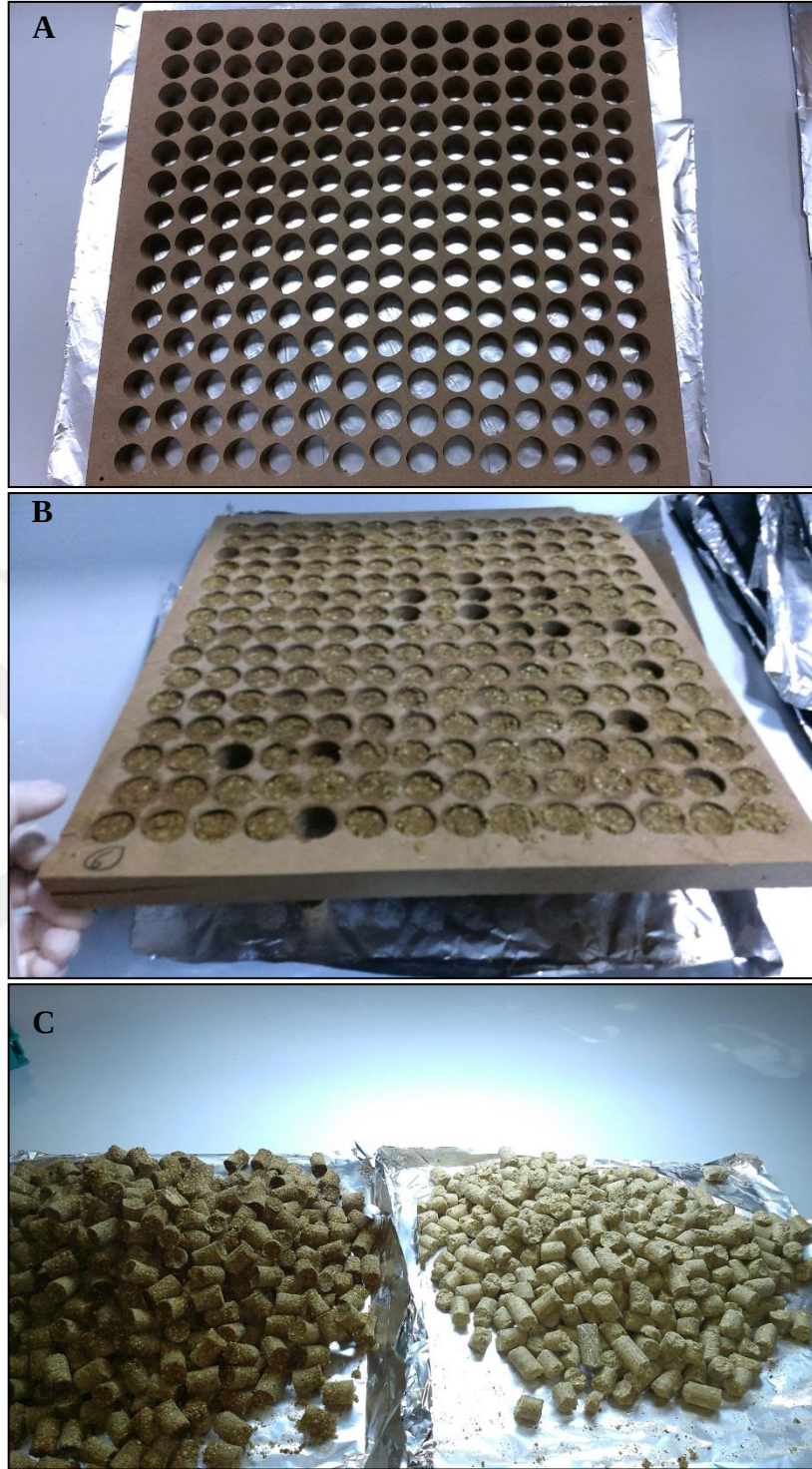
5.2.3. Doksorubisin’ in Hazırlanması

Piyasada Doksorubisin bulunmadığı için muadili olan Adriamisin kullanıldı. Hayvanlara ilacın etkisini kaybetmemesi için 1., 7., 14., 21. ve 28. günlerde hayvan başına 3 mg/kg olacak şekilde intraperitoneal enjeksiyon yapıldı (139). Bunun için flakonda bulunan 50 mg’lık ilaç 23.80 mL steril su ile çözüldü ve sıçanlara 0.5 mL enjekte edildi.

5.2.4. E Vitamininin Hazırlanması

E Vitamini yağda çözünen bir vitamin olduğundan hayvanlara içme suyu ile verilebilmesi için α -tokoferol asetat formu kullanıldı. Günlük 50 mg/kg olacak şekilde (140) sıçanların içme suyuna karıştırıldı. Hayvanların günlük yaklaşık olarak 55-60 mL su tükettiği göz önüne alınarak, genç sıçanlar için 550 mL suya 320.8 μ L, yaşlı sıçanlar için 412.5 μ L α -tokoferol asetat eklendi. Her gün taze hazırlandı.

Daha önce yapılan çalışmayla findığın olumlu etkilerinin 1 ay (30 gün) içinde görüldüğü bulunmuştu (3). Bu çalışmada sıçanlar findık ve findık zarı katkılı yem ile 1 ay (30 gün) beslendi. Bu süre boyunca 1., 7., 14., 21. ve 28. günlerde sıçanlara Doksorubisin enjeksiyonları yapılırken ağırlıkları da tartıldı ve ağırlıklarındaki değişimler kaydedildi. 30 günlük deney süresinin sonunda hayvanlara anestezi uygulanıp dekapite edilip abdominal kesi yapılarak testis, epididimis, prostat dokusu örnekleri ile beraber kan ve sperm örnekleri alındı.



Resim 4. Pellet yemlerin hazırlanması aşamasına ait görüntü. **A.**Yem hazırlamak için kullanılan kalıp, **B.** Fırınlama sonrası yem, **C.** Fındık katkılı yem (sol) ve standart yem (sağ).

5.2.5. Histolojik ve Biyokimyasal Analizler İçin Örneklerin Hazırlanması

Kullanılan çözeltiler:

Tris Tamponu (0.4 M pH= 7.4): 48.456 g Tris-Baz hassas terazide tartıldı, 600 mL saf suyla çözüldü. 1 M HCl ile pH'sı 7.4'e ayarlandı. Son hacim saf suyla 1 L tamamlandı

Bouin Solüsyonu: 75 mL doymuş pikrik asit çözeltisi, 75 mL formaldehit (% 37'lik) ve 5 mL glasiyel asetik asit çözeltileri kullanıldı. Önce doymuş pikrik asit çözeltisi formaldehit ile karıştırıldı, sonra üzerine yavaşça glasiyel asetik asit eklendi ve iyice karıştırıldı (141).

1. Alınan testis dokusu vertikal olarak ikiye bölündü. Yarısi histopatolojik değerlendirmeler için bouin solüsyonuna alınıp saklandı. Geri kalan testis dokusu 1.5 mL'lik plastik ependorf tüplere bölüştürülerek çalışmanın yapılacağı zamana kadar laboratuvarımızda bulunan -80 °C'de derin dondurucuda saklandı. Epididimis ve prostat dokularının bir kısmı da % 10'luk formalin çözeltisine alınıp histolojik değerlendirmeler için saklandı. Geri kalan doku örnekleri 1.5 mL'lik plastik ependorf tüplere konularak, çalışmanın yapılacağı zamana kadar laboratuvarımızda bulunan -80 °C'de derin dondurucuda saklandı.

2. Testisten ayrılan epididimis ise 2 mL Tris tampon solüsyonu içeren bir petri kaba alındı ve küçük parçalar halinde kesiler uygulanıp spermilerin sıvı içerisinde yüzmesi sağlandı. Sperm içeren bu solüsyonda sperm sayısı (142) canlılık, motilite (143) ve morfoloji değerlendirmesi aynı gün yapıldı. Geri kalan sperm örnekleri 500 µL'lik plastik ependorf tüplere konularak, çalışmanın yapılacağı zamana kadar laboratuvarımızda bulunan -80 °C'de derin dondurucuda saklandı.

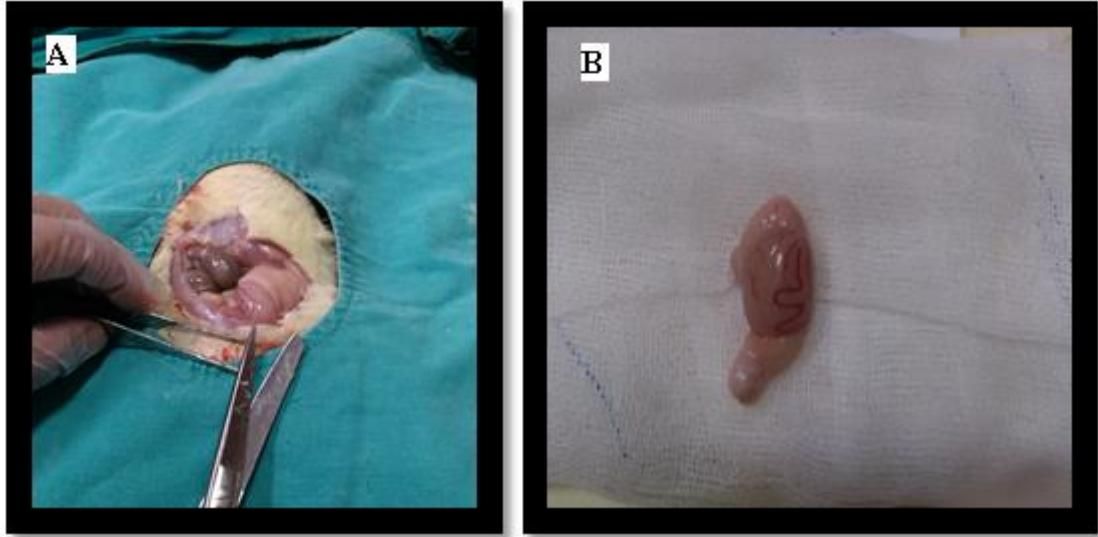
3. Hayvanların kanları, dekapitasyon ile jelli ve EDTA'lı tüplere alındı, santrifüj sonrası serum ve plazma ayrılarak çalışmanın yapılacağı zamana kadar laboratuvarımızda bulunan -80 °C'de derin dondurucuda saklandı.

5.2.6. Histolojik Analizler

5.2.6.1. Işık Mikroskobu için Dokuların Hazırlanması ve Kesitlerin Alınması

Dokuların takip, kesit alma ve boyama işlemlerinin tümü KTÜ Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarları'nda gerçekleştirildi. Alınan Prostat ve epididimis dokuları % 10'luk formaldehit solüsyonuna; testis dokuları ise

Bouin solüsyonuna alınarak 3 gün karanlıkta oda sıcaklığında tespiti edildikten sonra rutin doku takip işlemlerinden geçirildi ve parafin blok haline getirildi.



Resim 5. Testis ve epididimisin çıkarılmasına ait görüntü. **A.** Çıkarılma işlemi
B. Çıkarılmış testis ve epididimis

Parafin blok haline getirilen dokular tam otomatik mikrotom (Leica RM 2255, Tokyo, Japan) yardımıyla dokunun başlangıcına kadar 20 µm’lik kesitlerle trimlendi, dokuya ulaşıncaya 5 µm’lik ince kesitler alındı. Alınan kesitler 45 °C’de benmaride kırışıklıklarının açılması için bekletildi ve lam üzerine alındı.

5.2.6.2. Hematoksilen-Eozin Boyama Yöntemi

Kesit alınan dokular lam üzerine alındıktan sonra Hematoksilen-Eozin (H&E) boyaması için zembile yerleştirildi. Örnek 1 saat 58 °C’de etüvde bekletildi, parafin eridikten sonra H&E ile boyandı.

Hazırlanan preparatlarda tüm gruplara ait prostat, epididimis ve testis dokuları genel histopatolojik yapı açısından değerlendirildi. Dokuların değerlendirilmesinde Olympus BX 51 (Tokyo, Japan) fotomikroskoplu ışık mikroskop kullanıldı. Testis dokusunun değerlendirmesinde seminifer tübül hasar değerlendirmesi için Johnsen skorlama sistemi kullanıldı (Tablo 8) (142, 144).

Tablo 8. Johnsen skrolama sistemi

Johnsen Skoru	Tanımlama
10	Germinal epitel çok sıralı, çok sayıda spermatozoa var
9	Germinal epitelyum disorganize ve lümene doğru yığılma, spermatozoa var
8	Germinal epitel çok sıralı ancak lümende 10'dan az spermatozoa var
7	Spermatozoa yok, çok sayıda spermatid var
6	Spermatozoa yok, spermatid 10'dan az
5	Spermatozoa yok, spermatid yok, spermatosit var
4	Spermatozoa yok, spermatid yok, spermatosit 5'den az
3	Germ hücre olarak sadece spermatogonia var
2	Germ hücresi yok, sadece sertoli hücresi var
1	Seminifer tübül içerisinde hiç hücre yok

5.2.6.3. Epididimiste Toplam Sperm Sayısı, Motilite, Canlılık ve Morfoloji Değerlendirmesi

Çalışmamızda epididimisten elde edilen spermlerin değerlendirilmesi şu şekilde yapıldı: Tris tamponu (pH= 7.5) içeren petri kabında epididimis parçalara ayrılıp 37 °C'de 10-30 dk bekletilip spermlerin tampon içerisinde yüzmesi sağlandı. Ardından sperm sayımı, motilite, canlılık değerlendirme yapıldı. Sperm sayımı için "Makler Sperm Sayımı Kamarası" kullanılmıştır. 1978 yılında Prof. Dr. Amnon Makler tarafından sperm sayımı için özel olarak tasarlanmıştır. Semen örneğinin incelendiği kamaranın 10 µm derinliğinde olması spermatozoanın tek bir düzlemde serbest hareketine olanak sağlamaktadır. Makler kamarası ile spermlerin hareketlilik yüzdeleri daha kesin olarak belirlenebilmektedir (145). Bir damla sperm (5 µL) kamaranın merkezine damlatılıp üzerine kapak camı kapatıldı. Dört adet kuvars bacak sayesinde spermlerin, 10 µm derinlikte yüzmeleri sağlandı. Bu derinlikte ancak bir adet sperm başı sığabildiği için bir hat üzerinde yapılacak sayım X 20 büyütme altında 10 karede motil ve non-motil sperm sayıldı ve 10^6 ile çarpılarak mililitredeki ($X 10^6/\text{mL}$) sperm sayısı hesaplandı. Motil sperm sayısının toplam sperm sayısına oranı bulunarak motilite % olarak hesaplandı. Normal sperm konsantrasyonu ($>20 \times 10^6/\text{mL}$) dikkate alınarak değerlendirildi (145).

Canlılık değerlendirme için lam üzerine semen örneğinden 1 damla damlatıldı ve üzerine 1 damla % 1'lik eozin-y eklenerek karıştırıldı ve lamel ile kapatıldı. Her bir

örnekte farklı alanlarda totalde en az 100 sperm canlılık açısından değerlendirildi. Baş kısmı tespit olmuş (kırmızı renkte) olan spermier ölü, baş kısmı tespit olmamış (yeşil renkte) olan spermier canlı olarak değerlendirildi (146).

5.2.6.4. İmmünohistokimyasal İşlemler

Testis, epididimis ve prostat dokularındaki apoptozisi değerlendirmek için TUNEL (Terminal deoxynucleotidyl transferase (TdT) deoxyuridine triphosphate nick end labeling assay) tekniğı kullanıldı ve hücrelerde DNA fragmentasyonları tanımlandı. TUNEL boyama için In situ cell death detection kit AP (Roche, Mannheim, Germany) üretici firmanın önerileri doğrultusunda kullanıldı. Homojen boyanmış kahverengi nükleuslu TUNEL (+) hücreler apoptotik hücre olarak değerlendirildi. X 400'lık büyütmeye TUNEL (+) ve TUNEL (-) hücreler sayıldı ve TUNEL (+) hücre sayısı / toplam Hücre Sayısı X 100 = Apoptotik İndeks (AI) olarak değerlendirildi (147).

5.2.7. Biyokimyasal Analizler

5.2.7.1. Glutasyon Peroksidaz Aktivite Tayini

GPx aktivite tayini Cayman firmasının 703102 nolu GPx spektrofotometrik kiti kullanılarak yapıldı. Ölçüm için testis, epididimis, prostat dokuları ve sperm örnekleri homojenize edilerek, plazma örnekleri ise seyreltilerek kit protokolüne uygun olarak hazırlandı.

Doku İçin Homojenizasyon Aşaması: Dokular buz aküsü üzerinde kesilerek hassas terazide yaklaşık 50-100 mg arası tartıldı. Doku buz üzerinde bekleyen 1 mL soğuk homojenizasyon tamponuna (0.0027 M potasyum klorür, 0.137 M sodyum klorür, 5 mM Etilen diamin tetra asetik asit (EDTA) içeren pH= 7.4 olan 0.01 M fosfat tamponu) konuldu. Dokular soğuk ortamda 30 saniye (sn) süre ile homojenizatörle homojenize edildi. Homojenize doku 4 °C'de, 3000 rpm'de, 10 dakika (dk) santrifüj edildi. Üstte kalan süpernatant kısımdan 150 µL Glutasyon ölçümü için ayrıldı. Kalan kısımda GPx ve protein miktarı tayini yapıldı. GPx ölçümü için örneklerden 175 µL alınarak seyreltme pleytlerine aktarıldı ve üzerlerine 25 µL 1,4-Ditiotreitol (DTT) eklendi.

Semen İçin Homojenizasyon Aşaması: Semen örnekleri, doku örnekleri için kullanılan tampon ve koşullarda homojenize edildikten sonra 4 °C'de, 10000 x g'de, 15

dakika (dk) santrifüj edildi. Süpernatant kısmı kullanılarak kit protokolüne uygun şekilde GPx ölçümü yapıldı.

Tüm örnekler için seyreltme miktarını kararlaştırmak amacıyla ön denemeler yapıldı. Plazma örnekleri 1/2 kat PBS tamponuyla seyreltildi. Diğer doku ve semen örnekleri 20 kat seyreltildi. Daha sonra kit prosedürüne uygun olarak pipetlemeler yapıldı. 340 nm’de spektrofotometrik ölçüm yapıldı ve aşağıdaki formül kullanılarak GPx aktivitesi nmol/dk/mL olarak hesaplandı. Bu kitin intra-assay % CV değeri 7.71 bulunmuştur.

	$\Delta A_{340} / \text{dk}$	0.19 mL	
GPx Aktivitesi =	$\frac{\quad}{0.00373 \mu\text{M}^{-1}}$	$\times \frac{\quad}{0.02 \text{ mL}}$	$\times \text{Seyreltme Kat Sayısı}$

5.2.7.2. Glutasyon Ölçümü

Sperm ve plazma glutasyon seviyesi Cayman firmasının 703002 nolu glutasyon spektrofotometrik kiti kullanılarak belirlendi. Ölçüm için daha önce GPx için hazırlanan sperm homojenatlarından ayrılan 150 μL süpernatant ve 150 μL plazma kullanıldı. Ölçüm yapılmadan önce hem sperm örneklerine hem de plazma örneklerine deproteinizasyon işlemi uygulandı. Deproteinize edilen örneklerde hem okside (GSSG) hem redükte glutasyon (GSH) ölçümü kit protokolüne uygun yapılmıştır.

Kullanılan çözeltiler:

% 10’luk MPA çözeltisi: 10 g meta-fosforik asit 100 mL saf suda çözülür.

4 M TEAM reaktifi: 2655 μL trietanol amin 2345 μL saf su ile karıştırılır.

1 M 2-Vinilpiridin: 540 μL 2-vinilpiridin 4460 μL etanol ile karıştırılır.

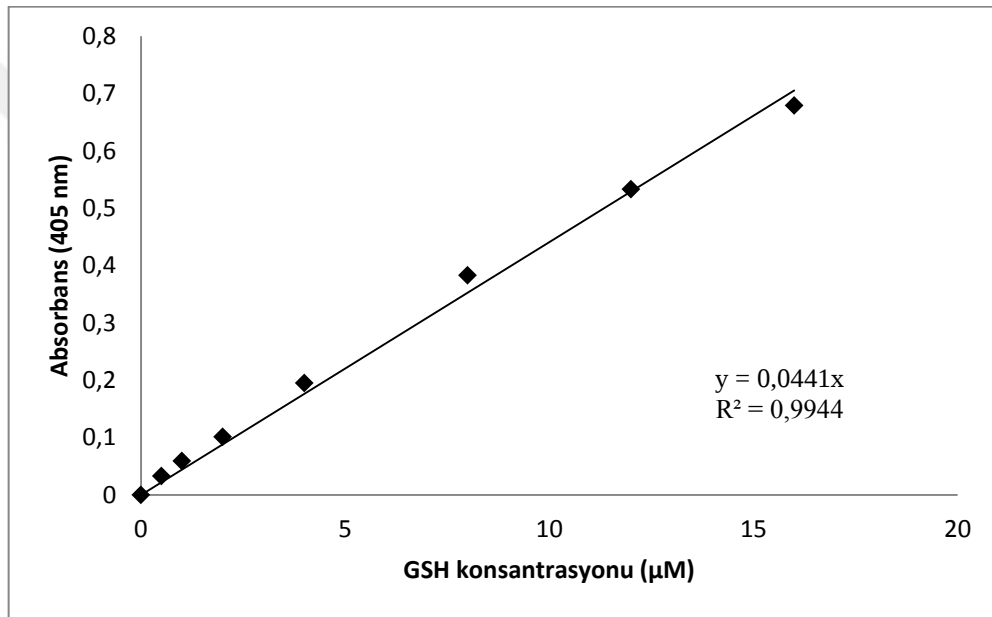
Deproteinizasyon aşaması: 150 μL süpernatant ve plazma üzerine 150 μL %10’luk meta-fosforik asit (MPA solüsyonu) eklendi ve numuneler iyice karıştırıldı. Süpernatant kısımdan 200 μL alınıp üzerine 4 M’lık 10 μL trietanol amin (TEAM) ilave edildi ve hemen karıştırıldı. Bu aşamadan sonra numunelerin türevlendirilmesi yapıldı.

Türevlendirme aşaması: Deproteinize edilen numuneler 2-vinilpiridin ile türevlendirildi. Süpernatandan 100 μL alınıp üzerine 1 μL 2-vinilpiridin eklendi ve

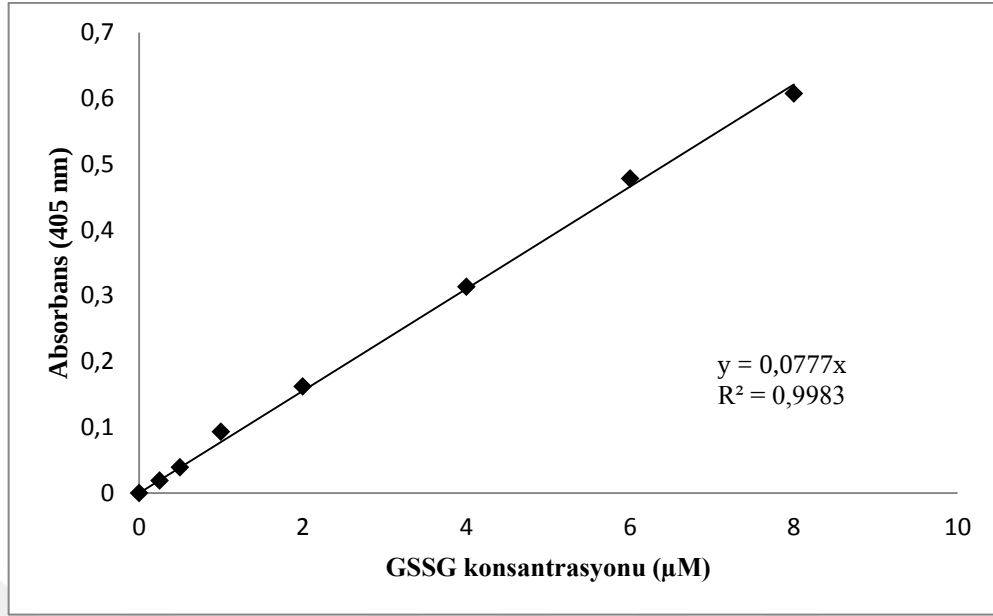
karıştırıldı. Oda sıcaklığında 60 dk inkübasyona bırakıldı. Numunelere uygulanan bu işlem standartlara da uygulandı.

Seyreltme miktarını kararlaştırmak amacıyla ön denemeler yapıldı. Daha sonra kit prosedürüne uygun olarak pipetlemeler yapıldıktan sonra numuneler oda sıcaklığında karanlıkta inkübasyona bırakıldı 25. dk'da 405 nm'de spektrofotometrik ölçüm yapıldı.

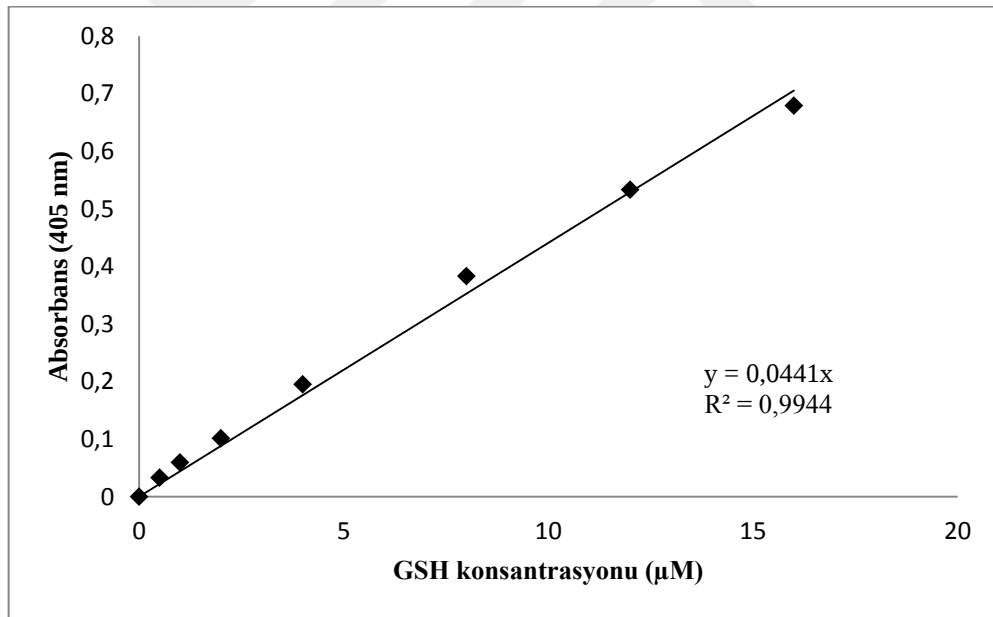
Şekil 4, 5, 6, 7'de sperm ve plazma örnekleri için ayrı ayrı GSSG ve GSH standart grafiği çizildi. Bu grafiğlere göre GSH/GSSG konsantrasyonu hesaplandı. Bu kitin intra-assay % CV değeri 6.66 bulunmuştur.



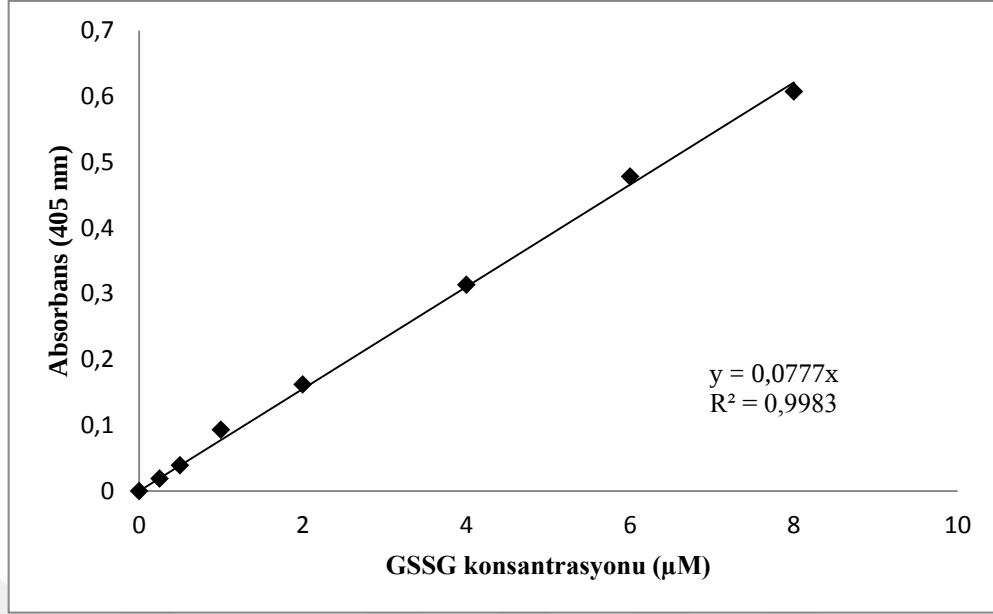
Şekil 4. Sperm GSH seviyesi için standart grafiği



Şekil 5. Sperm GSSG seviyesi ölçümü için standart grafiği



Şekil 6. Plazma GSH seviyesi için standart grafiği



Şekil 7. Plazma GSSG seviyesi için standart grafiği

5.2.7.3. MDA Ölçümü

5.2.7.3.1. Doku ve Sperm MDA Ölçümü

Doku ve sperm örneklerinde lipid peroksidasyonun son ürünü olan MDA ölçümü Mihara ve Uchiyama yöntemi (148) modifiye edilerek yapıldı. Ölçümün esası MDA'nın asidik ortamda tiyobarbitirik asit (TBA) ile renkli molekül oluşturması ve bu molekülün renginin 532 nm'deki absorbansının ölçülmesine dayanmaktadır.

Homojenizasyon Aşaması: Dokular buz aküsü üzerinde kesilerek hassas terazide yaklaşık 50-100 mg arası tartıldı. Doku buz üzerinde bekleyen 500 µL soğuk homojenizasyon tamponuna (0.5 mL/L Triton X-100 içeren % 1.15'lik KCl çözeltisi) konuldu. Dokular soğuk ortamda 30 saniye (sn) süre ile homojenizatörle homojenize edildi. Homojenize doku 4 °C' de, 3000 rpm' de, 10 dakika (dk) santrifüj edildi. Üstte kalan süpernatant kısım alındı. Bu süpernatant kısımda MDA ve protein tayini yapıldı.

Kullanılan Çözeltiler:

Doku homojenizasyon tamponu: 1,15 g KCl hassas terazide tartıldı, üzerine 0,5 mL Triton X-100 eklendi ve son hacim saf su ile 1 L' ye tamamlandı.

% 1'lik H₃PO₄ çözeltisi: Bir miktar saf su üzerine 11.77 mL % 85'lik H₃PO₄ alındı ve son hacim saf su ile 1 L'ye tamamlandı.

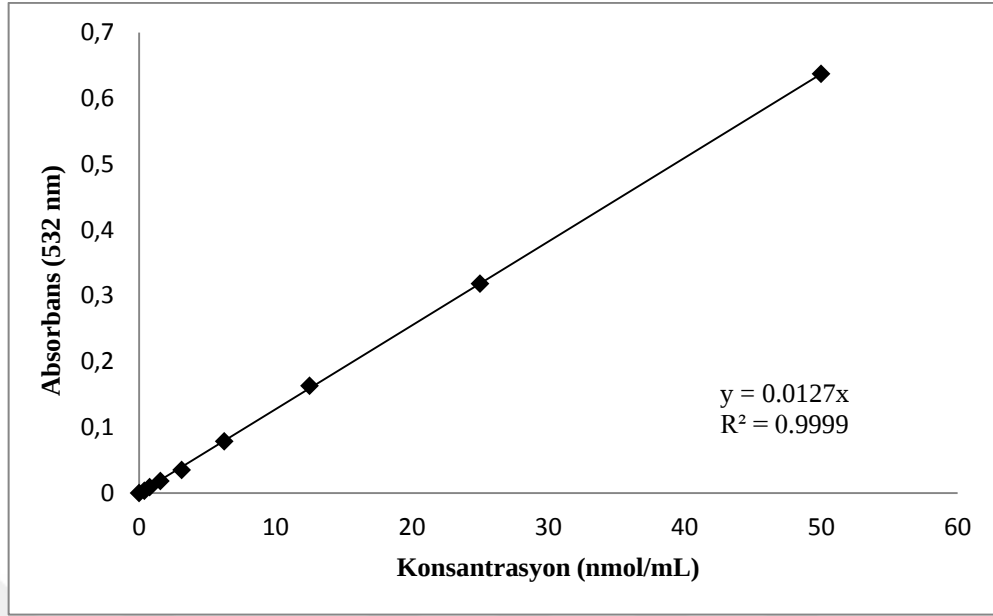
% 0.67'lik Tiyobarbitürik asit (TBA) çözeltisi: 0,335 g TBA tartıldı ve 25 mL saf su eklendi. 10 dk karıştırıcıda ısıtılarak manyetik bar kullanılarak çözünmesi sağlandı. Ardından üzerine 25 mL glasiyel asetik asit eklendi.

Standart çözeltiler: 82.5 µL 1,1,3,3-tetrametoksipropan 0.01 M 50 mL HCl çözeltisine ilave edildi. Çözelti 50 °C'de 1 saat inkübasyona bırakıldı. Bu hazırlanan ana stok çözeltinin konsantrasyonu 10 µmol/mL'dir. Bu ana stoktan sırasıyla 50, 25, 12.5, 6.25, 3.125, 1.5625, 0.7813, 0.3906 ve 0 nmol/mL'lik standart çözeltiler hazırlandı. Örnekler ve standartlar Tablo 9'da verilen şekilde pipetlendi.

Tablo 9. Doku ve sperm MDA seviyesi ölçümü için yapılan reaksiyon karışımı

Reaktifler	Eklenen Miktar (mL)
Doku homojenatı (Sperm süspansiyonu)	0.25
H ₃ PO ₄	1.5
Tiyobarbitürik asit	0.5

Tablo 9'da verilen pipetlemeler yapıldıktan sonra tüpler vortekslendi ve 100 °C'de etüvde inkübasyona bırakıldı. İnkübasyondan sonra soğumaya bırakıldı ve 4000 rpm'de 10 dk santrifüj edildi. Süpernatantlar pleytlere aktarıldı ve 532 nm'de spektrofotometrik olarak okutuldu. Şekil 8'deki standart grafiğe göre MDA konsantrasyonu hesaplandı. Sonuçlar ise nmol/mg protein başına verildi. Protein ölçümleri Bradford yöntemiyle yapıldı.



Şekil 8. Doku MDA seviyesi için standart grafiği

5.2.7.3.2. Plazma MDA Ölçümü

Plazmada lipid peroksidasyonunun son ürünü olan MDA seviyesi tayini Yagi (149) tarafından geliştirilen, Tiyobarbitürik asit reaktif maddeler (TBARS) yöntemi kullanılarak, ölçüldü. Ölçümün esası MDA'nın asidik ortamda tiyobarbitürik asit (TBA) ile renkli bileşik oluşturması ve bu bileşiğin renginin 532 nm'deki absorbansının ölçülmesine dayanmaktadır.

Kullanılan çözeltiler:

0,0084 N Sülfürik asit (H_2SO_4): 342 μL H_2SO_4 'den alınıp bir miktar saf suya pipetlendi, son hacim saf suyla 150 mL'ye tamamlandı.

% 10'luk Fosfotungustik asit [$H_3(W_3O_{10}) \cdot 4 \cdot H_2O$]: 2.5 g fosfotungustik asit 25 mL saf suda çözüldü.

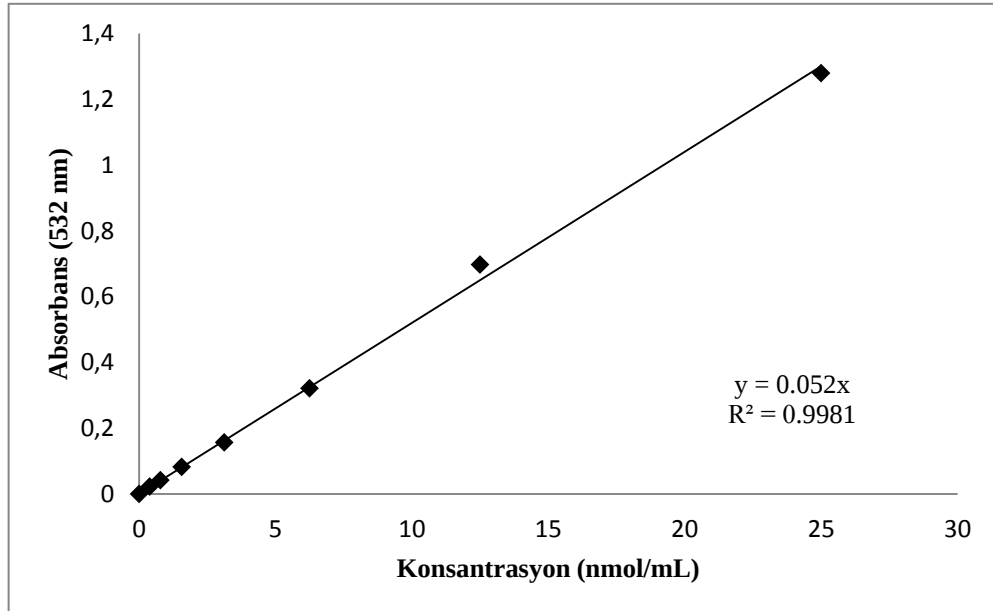
% 0.67'lik Tiyobarbitürik asit (TBA) çözeltisi: 0,335 g TBA tartıldı ve 25 mL saf su eklendi. 10 dk karıştırıcıda ısıtılıp manyetik bar kullanılarak çözünmesi sağlandı. Ardından üzerine 25 mL glasiyel asetik asit eklendi.

Standart çözeltiler: Hazırlanan 10 $\mu mol/mL$ 'lik ana stok çözeltiden sırasıyla 25, 12.5, 6.25, 3.125, 1.5625, 0.7813, 0.3906 ve 0 nmol/mL'lik standart çözeltiler hazırlandı.

Aşağıdaki tabloya göre pipetlemeler yapıp 532 nm’de spektrofotometrik olarak okutuldu. Şekil 9’daki standart grafiğe göre MDA konsantrasyonu hesaplandı. Bu çalışmanın intra-assay % CV değeri 3.70 bulunmuştur.

Tablo 10. Plazma MDA seviyesi ölçümü için yapılan reaksiyon karışımı

Reaktifler	Numune (µL)	Standart (µL)
Numune	150	-
H ₂ SO ₄	1500	-
Fosfotungstik asit	150	-
Vortekslendi, 5 dakika bekletildi, 4000 rpm’de 10 dk santrifüjlenip üst faz atıldı.		
Saf su	2000	-
Çökelek vortekslenerek çözüldü.		
Standart	-	2000
TBA	500	500
1 saat 100°C’de etüvde inkübasyona bırakıldı, etüvden çıkarıldıktan sonra soğuması için beklendi. 3000 rpm’de 10 dk santrifüj edildi, üst faz pleylere yüklenerek 532 nm’de okuma yapıldı.		



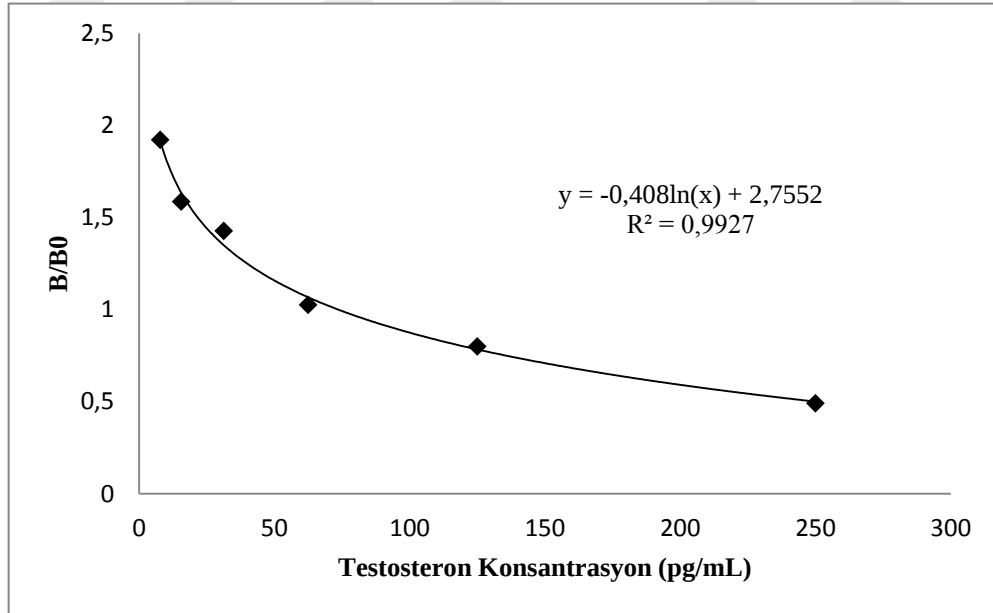
Şekil 9. Plazma MDA seviyesi ölçümü için standart grafiği

5.2.7.4. Testosteron Ölçümü

Serum testosteron seviyesi Cayman firmasının 582701 nolu testosteron ELISA kiti kullanılarak belirlendi. Kit protokolüne uygun şekilde Tablo 11'e göre pipetlemeler yapılarak testosteron ölçümü yapıldı. Şekil 10'daki standart grafiğe göre testosteron konsantrasyonu hesaplandı. Sonuçlar ise ng/dL olarak verildi.

Tablo 11. Plazma testosteron seviyesi ölçümü için yapılan reaksiyon karışımı

Reaktifler	Kör	Total Aktivite	Non-spesifik bağlanma	Maksimum bağlanma	Standart/Numune
Çalışma tamponu (µL)	-	-	100	50	-
Standart/Numune (µL)	-	-	-	-	50
İşaretleyici (µL)	-	-	50	50	50
Antikor (µL)	-	-	-	50	50
Pleyt kapatıldı ve oda sıcaklığında 2 saat inkübasyona bırakıldı.					
Pleyt 5 defa yıkama tamponuyla yıkandı.					
İşaretleyici (µL)	-	5	-	-	-
Ellman reaktifi (µL)	200	200	200	200	200
Pleyt kapatıldı ve çalkalayıcıda, oda sıcaklığında 90 dk inkübasyona bırakıldı.					



Şekil 10. Plazma Testosteron seviyesi ölçümü için standart grafiği

5.2.7.5. E Vitamini Ölçümü

Antioksidan bir molekül olan Vitamin E ölçümü LC-MS-MS ile yapıldı. Bunun için örnekler ön işlemiden geçirildi. 500 µL sperm süspansiyonu Agilent marka 10 mL hacimli kapaklı şişelere alındı. Şişelerdeki numunelerin donması için -80 °C’de 1 saat bekletildi. Dondurucudan çıkartılan numuneler çözünmeden CHRIST marka liyofilizasyon cihazına yerleştirildi. Cihaz çalıştırıldıktan 5 dk sonra soğutucu devreye girip, donma işlemi -30 °C’de gerçekleşti. 6. dk’da vakum ve sıcaklık düşmeye başladı. Numuneler 5 saat liyofilize edildi. 5. saatin sonunda cihaz kapatılıp numuneler ekstraksiyon işlemine hazır hale getirildi. Ekstraksiyon işlemi Kramer ve Surai (150, 151) metodları modifiye edilerek yapıldı.

Ekstraksiyon işlemi: Liyofilizasyon işleminden sonra şişelere soğuk 250 µL NaCl (% 5’lik, w/v) ve etanol eklendi. 30 sn vorteksle karıştırıldı. Daha sonra 45 sn buz üzerinde sonikasyon (Sonics & Materials Inc.) yapıldı. Bu işlemiden sonra 2 mL soğuk hekzan eklenerek 2 dk boyunca vorteksde karıştırıldı. 10 dk çalkalayıcıda oda sıcaklığında inkübasyona bırakıldı. Üst hekzan fazı cam pastör pipetiyle alınarak 10 mL’lik cam şişeye aktarıldı. Azot gazı altında hekzan uçuruldu. Numune 1 mL hekzan ile tekrar çözüldü ve tekrar azot gazı ile hekzan uçuruldu.

Numunelerin Hazırlanması: 100 µL plazma örneği 250 µL karışım çözeltisiyle (100 µL asetonitril, 140 µL metanol ve 10 µL internal standart) 30 sn boyunca vorteksle karıştırıldı ve 10000 x g’de 5 dk santrifüj edildi. Süpernatant, 96 kuyucuklu pleyt içine aktarıldı ve yüksek performanslı sıvı kromatografisi tandem kütle spektrometre analizi için 5 µL enjekte edildi.

LC-MS-MS koşulları: Ölçüm için Thermo Scientific (San Jose, CA) Ultimate 3000 Rapid Separation Quaternary System kullanıldı. Kromatografik ayırma için Hypersil GOLD aQ C18 (50 x 2.1 mm, 3µm partikül boyutu) kolon kullanıldı. Çözücü A su içinde % 0.1 formik asit ve çözücü B ise metanol içinde % 0.1 formik asitti. Akış hızı % 0.8 mL/dk olarak ayarlandı. Gradyan programı 0.5 dk için % 76 B çözeltisi ardından 0.5–2.2 dk arası doğrusal bir artışla % 96 B çözeltisi ile başlatıldı. Mobil faz B çalışma sonuna kadar % 76’ya düşürüldü ve % 76’da kaldı. . Çalışma süresi 6 dk idi. Enjeksiyon hacmi 5 µL ve kolon akış hızı 0.8 mL/dk idi.

Kütle analizi, Atmosferik Basınç İyonizasyonu (APCI) ile entegre Thermo Scientific TSQ Acecess Max Triple Stage Quadrupole Mass Spectrometer (Thermo Scientific, San Jose, CA) cihazı kullanılarak tek izleme modu olan belirleme moduyla yapıldı. Isıtılmış kılcal tüpün sıcaklığı 325 °C, buharlaştırıcı sıcaklığı 350 °C, kılıf (sheath) gaz basıncı 30 Arb, yardımcı gaz basıncı 10 Arb, iyon kaynağı voltajı 4000 V, çarpışma gazı basıncı 1,5 mTorr olarak ayarlandı. Çarpışma enerjileri Tablo 12’de gösterilmiştir.

Tablo 12. E vitamini öncü iyonları ve ürün iyonları, çarpışma enerjileri ve polarite değerleri

Porfirin	Öncü İyon (M + 1) (m/z)	Ürün İyon (m/z)	Çarpışma Enerjisi (eV)	Polarite
Vitamin E	269.4	93.0	21	+
	431.4	165.2	25	+

5.2.7.6. Protein Tayini

Doku ve sperm örneklerindeki protein konsantrasyonu modifiye Bradford yöntemine (152) göre ölçüldü. Yöntem organik boyaların, proteinlerin asidik ve bazik gruplarıyla etkileşerek mavi renk oluşturması esasına dayanır.

Kullanılan çözeltiler:

Bradford reaktifi: 10 mg Coomassi Brilliant Blue G-250 5 mL % 95’ lik etanolde çözüldükten sonra üzerine % 85’lik H₃PO₄ eklendi. Son hacim 100 mL’ye tamamlandı.

% 20’lik HCl çözeltisi: Bir miktar saf su üzerine 27.03 mL % 37’lik HCl’den eklendi, son hacim saf su ile 50 mL’ye tamamlandı. Kullanılan cam malzemelerdeki olabilecek protein kalıntılarını uzaklaştırmak için yıkama çözeltisi olarak kullanıldı.

Standart çözeltiler: Standartlar sığır serum albümininden (BSA) hazırlandı. 20 mg BSA bir miktar saf suda çözüldükten sonra son hacim 20 mL’ye tamamlandı. Elde edilen 2 mg/mL’lik bu ana stoktan 1, 0.9, 0.8, 0.7, 0.6, 0.5, 0.4, 0.3, 0.2, 0.1, 0.05, 0.025, 0.0125 ve 0 mg/mL konsantrasyonlarında standartlar hazırlandı.

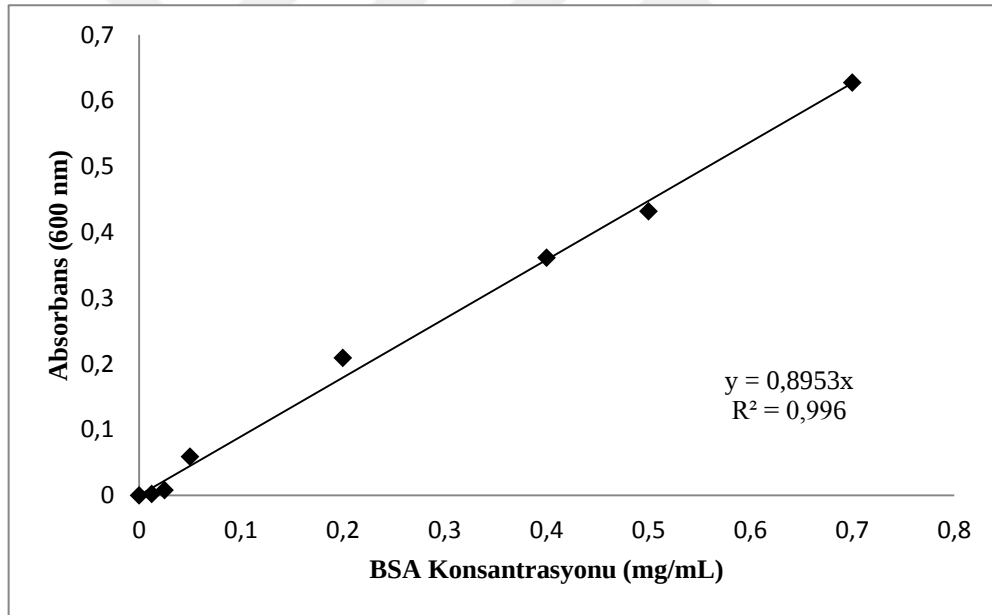
Protein ölçümü PBS ve KCl tamponuyla hazırlanmış doku numunelerinde, plazma ve sperm örneklerinde yapıldı. Doku homojenatları kendi tamponlarıyla 20 kat, plazma örnekleri PBS ile 250 kat seyreltildi. Tablo 13’e göre pipetlemeler yapıldı ve 10 dk oda

sıcaklığında inkübasyona bırakıldı. İnkübasyondan sonra 600 nm’de spektrofotometrik ölçüm yapıldı. Standart grafik kullanılarak konsantrasyonlar hesaplandı (Şekil 11). Değerler mg/mL protein olarak hesaplandı. Bu çalışmanın intra-assay % CV değeri 5.79 bulunmuştur.

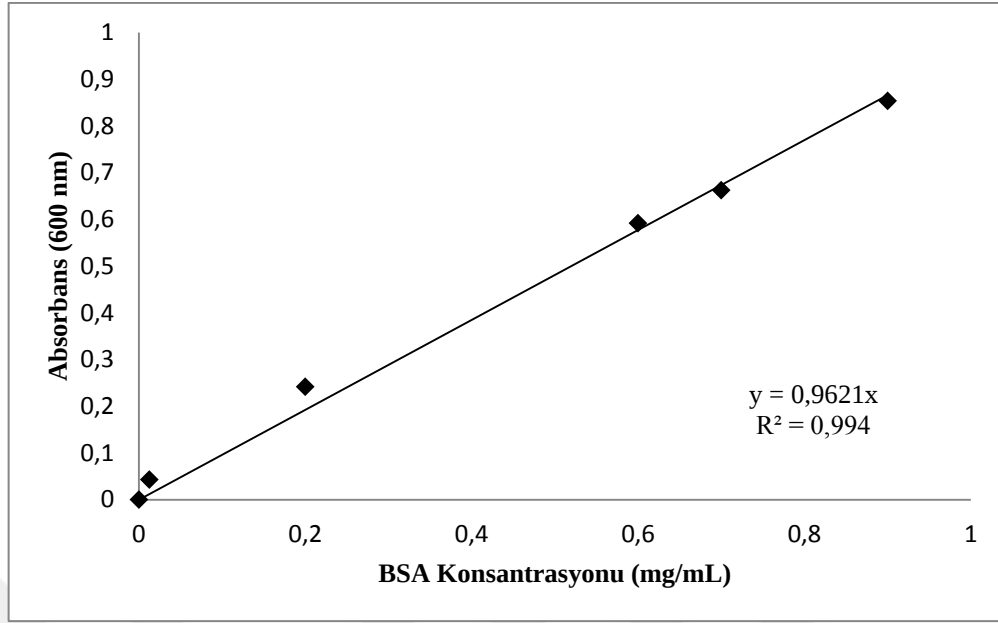
Tablo 13. Protein seviyesi ölçümü için yapılan reaksiyon karışımı

Reaktifler	Numune (µL)	Standart (µL)
Numune	10	-
Standart	-	10
Bradford reaktifi	100	100

Karıştırıldı ve 10 dk oda sıcaklığında inkübasyona bırakıldı. İnkübasyondan sonra 600 nm’de spektrofotometrik ölçüm yapıldı.



Şekil 11. Doku ve semen GPx ve GSSG/GSH için protein standart grafiği



Şekil 12. Doku ve semen MDA için protein standart grafiği

5.2.8. Kullanılan İstatistiksel Yöntemler

Veriler bilgisayara aktarıldı ve SPSS (IBM SPSS 22) programında istatistiksel olarak değerlendirildi. Parametrelerin normal dağılıma uygunluğu “Kolmogorov-Simirnov” testi yapılarak belirlendi. Veriler ortanca (medyan) ve çeyreklerarası aralık (%25–75) olarak verildi. Normal dağılıma uymayan parametrelerde gruplar arasındaki karşılaştırmalar Kruskal Wallis varyans analizi ile değerlendirildi. Anlamlı çıkan verilerde ikili karşılaştırma Mann-Whitney U testi (post-hoc olarak Bonferroni düzeltmeli) ile yapıldı. $p < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Hayvanların ağırlık bulguları aritmetik ortalama $\pm$ standart hata olarak ifade edildi. Normal dağılıma uygunluğu “Kolmogorov-Simirnov” testi yapılarak belirlendi. Normal dağılıma uymadığı görüldüğü için ağırlık bulgularının zamana göre değişimi Fridman testi kullanılarak incelendi. Başlangıç ile dört hafta sonundaki ağırlık bulgularındaki değişim Wilcoxon testi (post-hoc olarak Bonferroni düzeltmeli) kullanılarak yapıldı. $p < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

6. BULGULAR

6.1. Çalışma Grubuna Ait Vücut Ağırlığı Bulguları

Deney süresince hayvanların ağırlık değişimleri haftalık olarak ölçüldü ve kaydedildi. Tablo 14'te genç hayvanlara ait haftalık ağırlık bulguları gösterildi. Genç hayvanlarda kontrol grubunda istatistiksel olarak anlamlı artış gözlenirken, başlangıca göre 4. hafta sonunda fındık ve DOX gruplarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı. DOX+fındık, DOX+fındık zarı ve DOX+E vitamini gruplarında başlangıca göre deney sonunda kilo kaybı izlendi. Ancak genç hayvanların ağırlık verilerindeki değişiklikler istatistiksel olarak anlamlı değildi.

Tablo 14. Genç hayvanların 4 haftalık deney sürecindeki ağırlık bulguları (n= 8)

	Kontrol	Fındık	DOX	DOX+ Fındık	DOX+Fındık Zarı	DOX+E Vitamini
Başlangıç	360 ± 6	333 ± 10	364 ± 10	369 ± 15	364 ± 24	363 ± 23
1.Hafta	385 ± 13	336 ± 10	350 ± 10	353 ± 13	374 ± 15	351 ± 21
2.Hafta	370 ± 5	345 ± 8	351 ± 9	350 ± 15	353 ± 21	357 ± 20
3.Hafta	378 ± 6	348 ± 10	359 ± 10	340 ± 14	353 ± 24	359 ± 23
4.Hafta	380 ± 6	352 ± 8	371 ± 15	366 ± 4	358 ± 22	348 ± 16
P	0.032	0.083	0.655	0.158	0.963	0.463

Yaşlı hayvanların haftalık ağırlık bulguları Tablo 15'de verildi. Tüm gruplarda başlangıçtan deney sonuna kadar hafif düzeyde ağırlık kaybı gözlemlendi. Ancak yaşlı gruplarındaki ağırlık değişimi bulguları da istatistiksel olarak anlamlı değildi.

Tablo 15. Yaşlı hayvanların 4 haftalık deney sürecindeki ağırlık bulguları (n= 8)

	Kontrol	Fındık	E Vitamini
Başlangıç	501 ± 26	471 ± 22	428 ± 13
1.Hafta	499 ± 27	469 ± 23	424 ± 12
2.Hafta	490 ± 36	477 ± 22	411 ± 20
3.Hafta	496 ± 30	465 ± 25	409 ± 21
4.Hafta	484 ± 33	462 ± 25	405 ± 20
p	0.653	0.448	0.518

6.2. Genç Hayvanlara Ait Bulgular

6.2.1. Genç Hayvanların Histopatolojik Verilerine Ait Bulgular

6.2.1.1. Morfolojik Bulgular

Genç hayvanlara ait testis dokularının ışık mikroskobu genel görünümüleri Resim 6'da verilmiştir. Kontrol grubunda normal morfolojide seminifer tübül epitel yapısı ile birlikte kanal lümeninde çok sayıda spermiyum olduğu izlendi (Resim 6A).

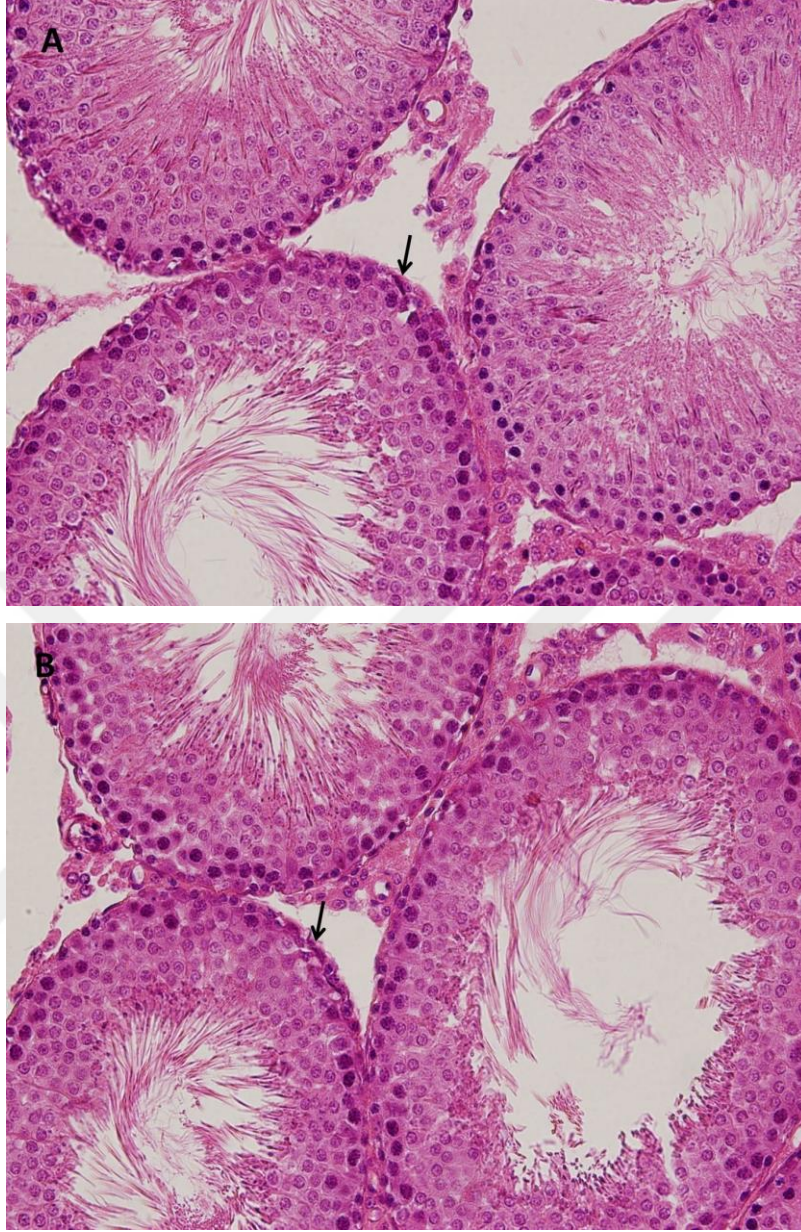
Fındık grubunda kontrol grubunda olduğu gibi düzgün morfolojide seminifer tübül yapısı, spermatogenetik hücreler ve kanal lümeninde spermiyumlar izlendi (Resim 6B).

DOX grubunda ise seminifer tübül yapısının bozulduğu, tübülü döşeyen spermatogenetik hücrelerde oldukça yoğun dejenerasyon, hücre kaybı, vakuolizasyon ve bazal membrandan ayrılmalar izlendi. Seminifer tübül lümeninde çok az sayıda spermiyum mevcuttu. Ayrıca seminifer tübül lümeninde olgunlaşmamış germinal epitel hücreleri izlendi (Resim 6C).

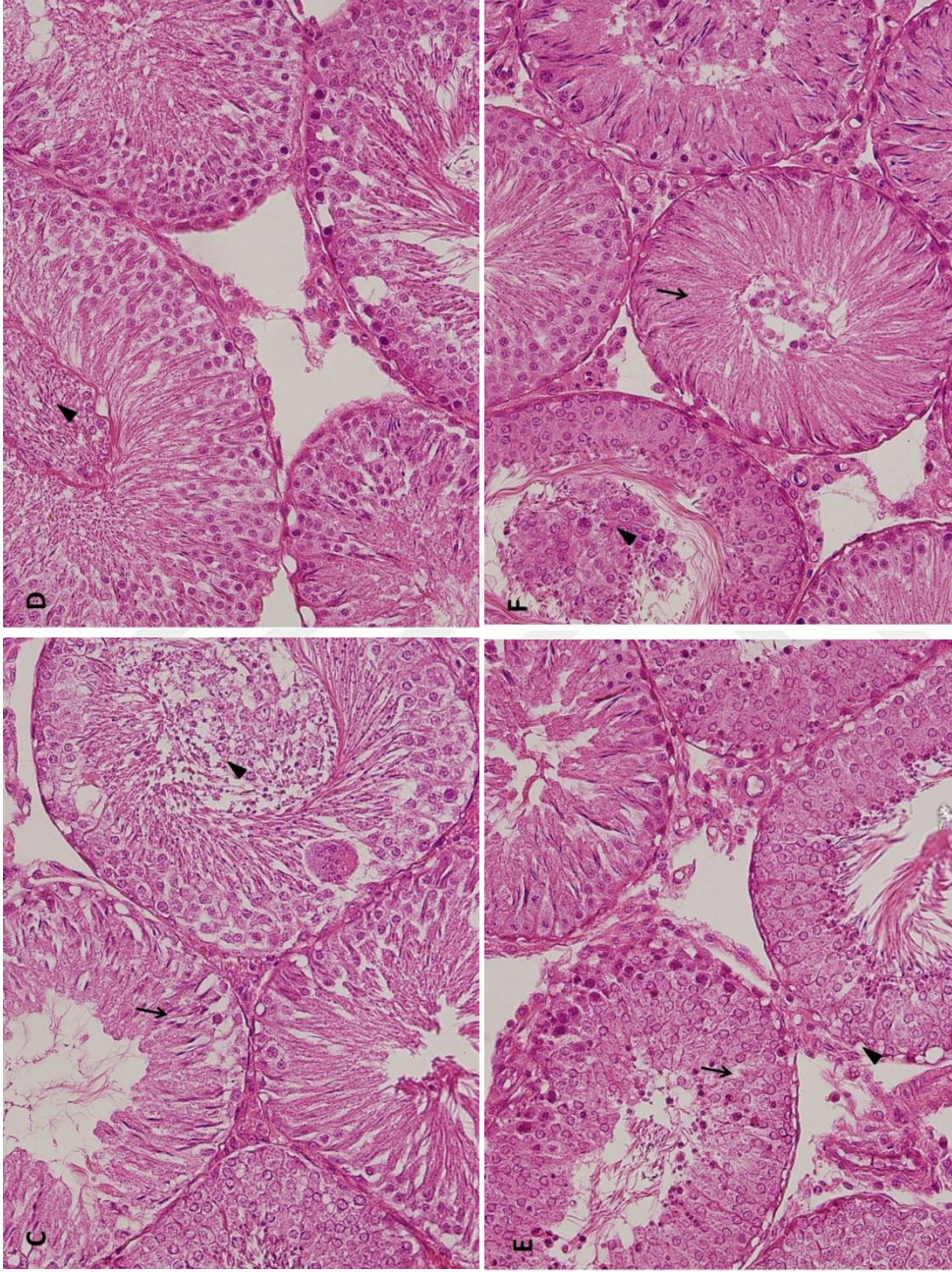
DOX+fındık grubunda seminifer tübül yapısının oldukça düzelmiş olduğu, genel olarak düzgün yapıda görülen seminifer tübüle ait germinal epitelde az miktarda vakuolizasyon, bazal membranda ayrılmalar gözlemlendi. Ayrıca tübül lümeninde yer yer olgunlaşmamış germinal epitel hücreleri ile birlikte çok sayıda spermiyum olduğu izlendi (Resim 6D).

DOX+fındık zarı grubunda seminifer tübül yapısının DOX grubuna göre oldukça düzelmiş olduğu izlendi. Ancak seminifer tübül germinal epitel hücrelerinde kayıp, şişme ve vakuolizasyon mevcuttu. Bazal membranda yer yer ayrılmalar görüldü. Tübül lümeninde spermiyumlar ile birlikte olgunlaşmamış germinal epitel hücreleri izlendi (Resim 6E).

DOX+E vitamini grubunda ise seminifer tübül yapısının düzgün olmasına rağmen çoğu tübülde germinal epitel hücrelerinde kayıp olduğu izlendi. Seminifer tübül lümeninde spermiyumlar ile birlikte bol miktarda olgunlaşmamış germinal epitel hücreleri izlendi (Resim 6F).



Resim 6. Testis dokusu seminifer tübül kesiti. **A:** Kontrol grubu, **B:** Fındık grubu. Seminifer tübül epitel yapısı (↑). (H&E X400)



Resim 6. Testis dokusu seminifer tübül kesiti. C: DOX grubu; Seminifer tübül epitel hücreleri (↑), olgunlaşmamış germinal epitel hücreleri (▲). D: DOX+Fındık grubu; olgunlaşmamış germinal epitel hücreleri (▲). E: DOX+Fındık Zarı grubu; germinal epitel hücrelerinde şişme ve vakuolizasyon (↑), bazal membranda yer yer ayrılmalar (▲). F: DOX+E Vitamini grubu; seminifer tübül epitel hücrelerinde kayıp (↑), olgunlaşmamış germinal epitel hücreleri (▲). (H&E X400)

Genç hayvanlara ait epididimis dokularının ışık mikroskobu genel görünimleri Resim 7’de verilmiştir. Kontrol grubunun duktus epididimise ait kanalı döşeyen düzgün yapıdaki yalancı çok katlı sterosilyumlu prizmatik epitel hücreleri ve kanal lümeninde spermiyumlar izlendi (Resim 7A).

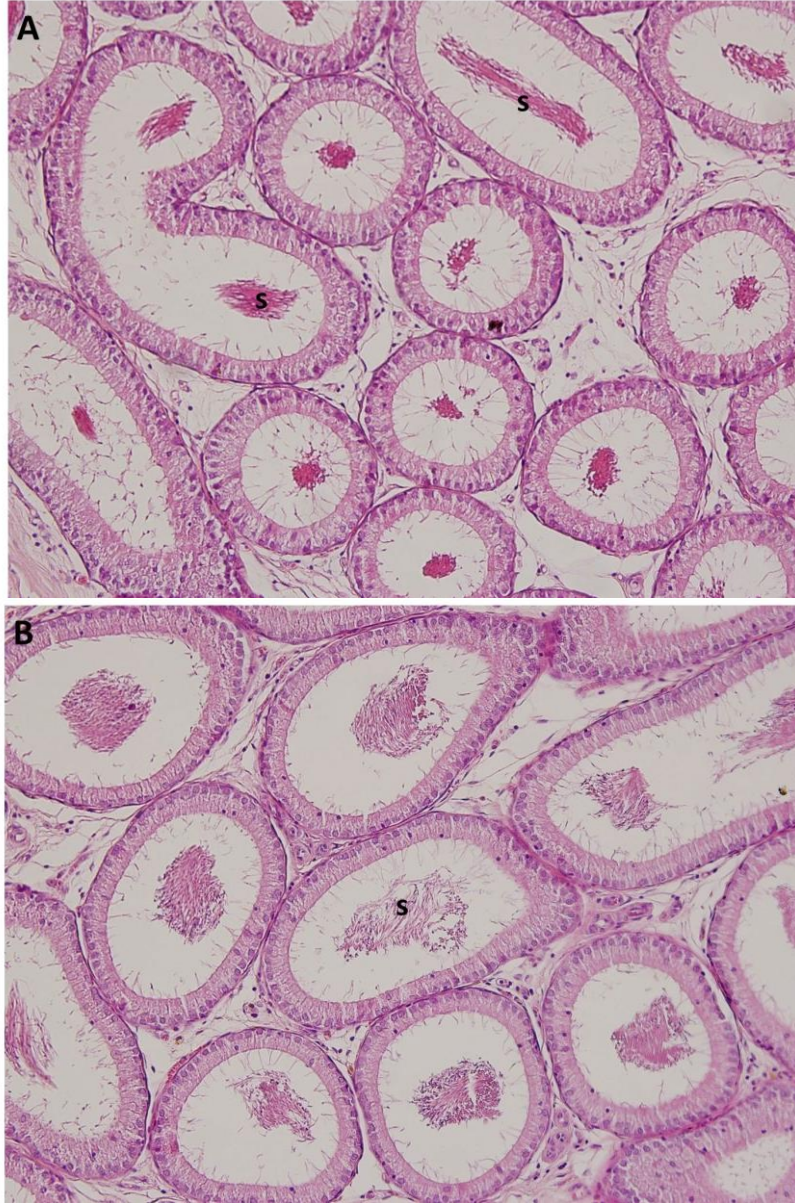
Fındık grubunda kontrol grubunda olduğu gibi kanal yapısının ve kanala ait epitelyal yapının düzenli olduğu ve kanal lümeninin fazla miktarda spermiyumlarla dolu olduğu görüldü (Resim 7B).

DOX grubunda kanal yapısının genel olarak bozuk olduğu, kanalı döşeyen epitelin oldukça yoğun dejenerasyon, apoptotik hücreler, bazal membrandan ayrılmalar ve epitelyal hücre sitoplazmalarında vakuolizasyonlar içerdiği ve kanal lümeninde çok az miktarda spermiyum olduğu görüldü (Resim 7C).

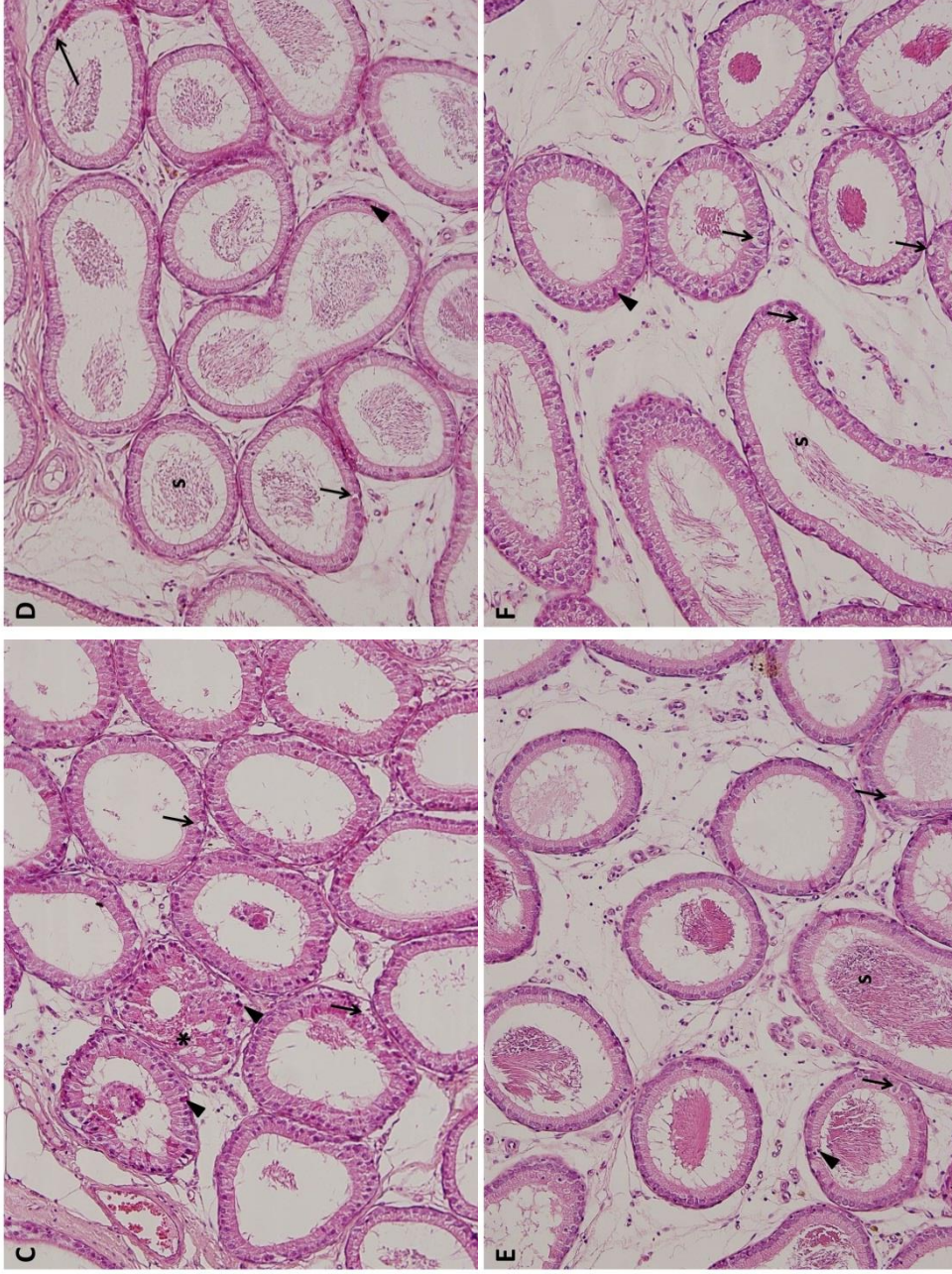
DOX+fındık grubunda kanal yapısının oldukça düzelmiş olduğu, genel olarak düzgün yapıda görülen kanal epitelinin yer yer az miktarda vakuolizasyon ve apoptotik hücre içerdiği ve kanal lümeninde çok sayıda spermiyum olduğu izlendi (Resim 7D).

DOX+fındık zarı grubunda epididimis kanal yapısındaki dejenerasyonun DOX grubuna göre azalmış olduğu ancak DOX+fındık grubu kadar giderilememiş olduğu görüldü. Kanal lümeninde spermiyumlar; kanal epitelinde az miktarda apoptotik hücreler ve vakuolizasyonlar izlendi (Resim 7E).

DOX+E vitamini grubunda ise kanal yapısında yer yer bozulmalar olduğu, kanal lümeninin spermiyum içerdiği, kanal epitelinde vakuolizasyonlar ve apoptoz olduğu tespit edildi. Epitelyal düzelmenin DOX+fındık grubuna göre daha az olduğu izlendi (Resim 7F).



Resim 7. Epididimis dokusu duktus epididimis kesiti **A:** Kontrol grubu, **B:** Fındık grubu. Kanal lümeninde spermiyumlar (s). (H&E X200)



Resim 7. Epididimis dokusu duktus epididimis kesitleri. **C:** DOX grubu, **D:** DOX+Fındık grubu, **E:** DOX+Fındık Zarı grubu, **F:** DOX+E Vitamini grubu kanal epiteli dejenerasyonu (*), apoptotik hücre (▲), vakuolizasyon (†) ve spermium (s). (H&E X200)

Genç hayvanlara ait prostat dokularının ışık mikroskobu genel görünimleri Resim 8'de verilmiştir. Kontrol grubunda normal prostat yapısına özgü düz kas lifleri içeren fibroelastik bağ dokusu ile çevrili tubuloalveoler bez kesitleri görüldü. Bez lümenlerinin tek katlı prizmatik ve yer yer yalancı çok katlı prizmatik epitel ile düzenli bir şekilde çevrelendiği gözlemlendi (Resim 8A).

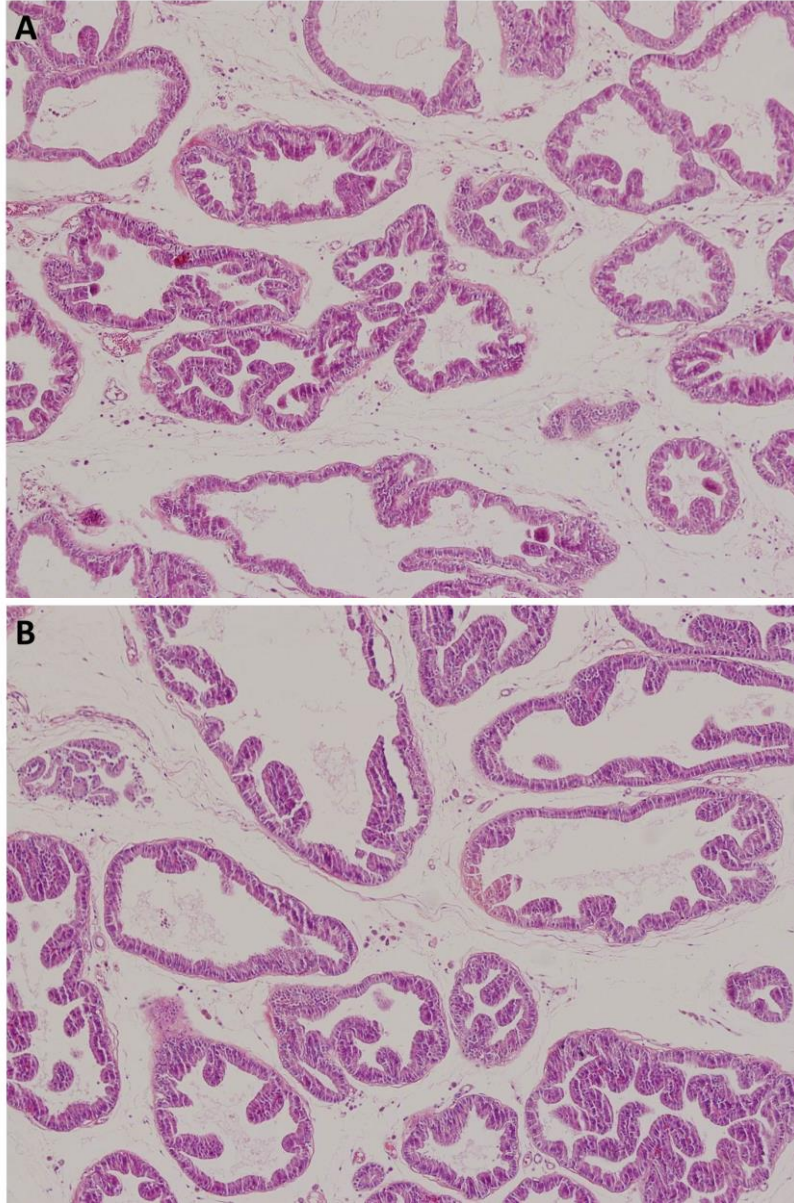
Fındık grubunda kontrol grubundakine benzer şekilde tubuloalveoler bez yapısı ve bezlerin lümenini düzenli şekilde çevreleyen tek katlı prizmatik ve yalancı çok katlı prizmatik epitel hücreleri incelendi (Resim 8B).

DOX grubunda ise bez yapılarının hasar gördüğü, epitel hücrelerinde apoptoz ve vakuolizasyonlar olduğu, epitel bütünlüğünü kaybettiği, bez epitelinin ayrıldığı, yer yer lümen içine döküldüğü ve stromada lökosit infiltrasyonu olduğu gözlemlendi (Resim 8C).

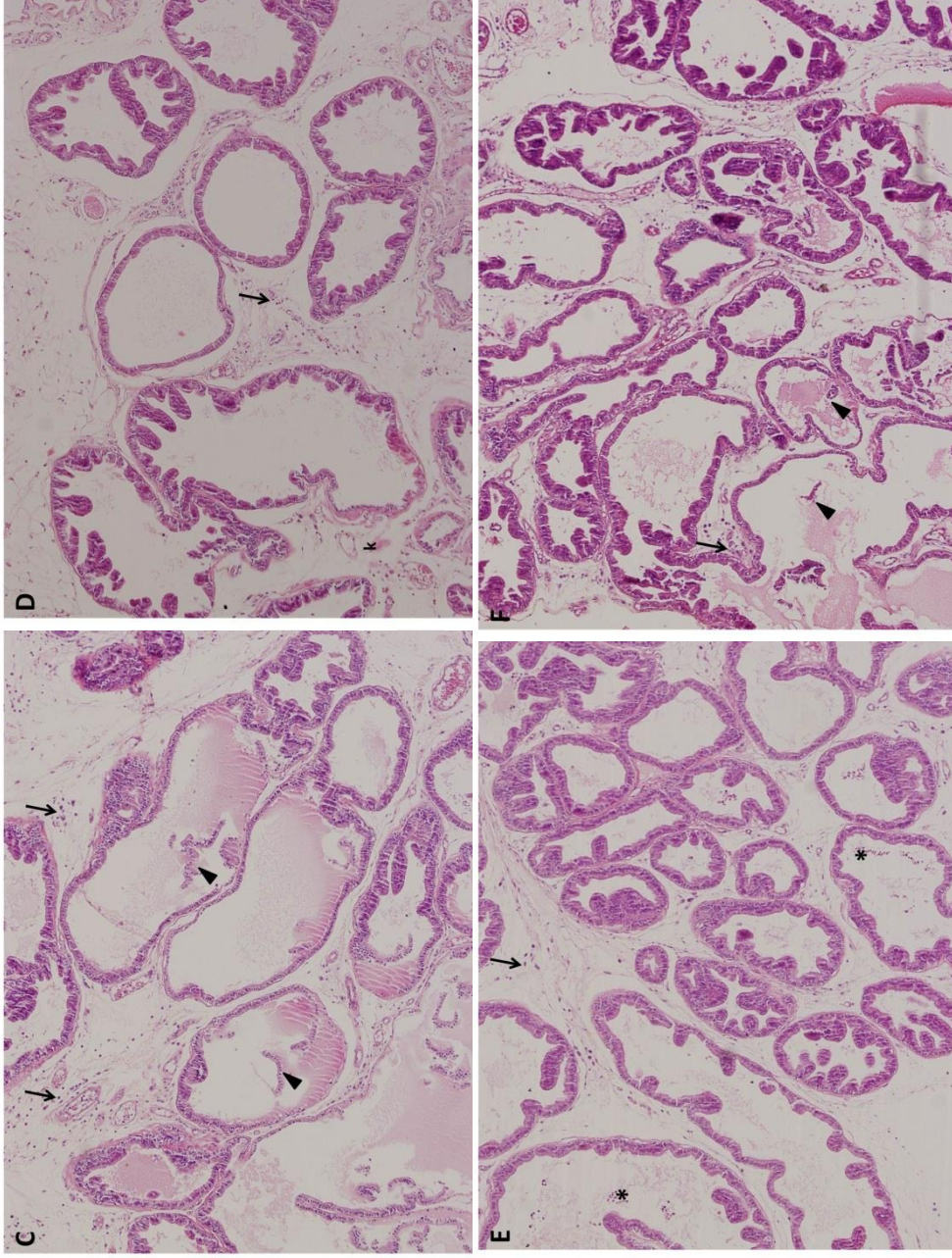
DOX+fındık grubunda bez yapısının normale yakın olduğu, bez epitelinin yenilendiği, stromadaki lökosit infiltrasyonunun DOX grubuna göre azaldığı ve bağ dokusunda kollajen lif artışı olduğu incelendi (Resim 8D).

DOX+fındık zarfı grubunda ise bez yapısında düzelme ve bez epitelinde DOX+fındık grubuna benzer şekilde yenilenme incelendi. Stromadaki lökosit infiltrasyonunun ise DOX grubuna göre azalmış olduğu görüldü. Bez lümenlerinde korpora amilasea mevcuttu (Resim 8E).

DOX+E vitamini grubunda bez epitelinde düzelmenin olduğu, ancak bazı bez yapılarında halen epitelin ayrılarak lümenine dökülmüş olduğu incelendi (Resim 8F).



Resim 8. Prostat doku kesiti. **A:** Kontrol grubu, **B:** Fındık grubu. (H&E X100)



Resim 8. Prostat doku kesiti. **C:** DOX grubu, **D:** DOX+Fındık Zarı grubu, **E:** DOX+Fındık grubu, **F:** DOX+E Vitamini grubu. Lümen dökülmiş epitel hücreleri (▲), inflamatuvar hücreler (↑), kollajen lif (k), korpora amilasea (*). (H&E X100)

Genç hayvanlara ait testis dokularının seminifer tübül yapısının Johnsen testis hasar skorlaması ile değerlendirme sonuçları; testis, epididim ve prostat dokularının TUNEL tekniği ile değerlendirilen Apoptotik İndeksleri (AI) sonuçları Tablo 16'da verilmiştir.

Fındık grubunun testis Johnsen skorlamasında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı artış gözlenirken ($p= 0.033$), DOX grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı azalış bulundu ($p= 0.002$). DOX+fındık, DOX+fındık zarı ve DOX+E vitamini gruplarının Johnsen skorlamasında ise DOX grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı artış olduğu bulundu (sırasıyla $p= 0.003$, $p= 0.004$, $p= 0.040$).

DOX grubunun testis apoptotik indeksi, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu ($p= 0.002$). Buna karşılık DOX+fındık, DOX+fındık zarı ve DOX+E vitamini gruplarının testis apoptotik indeks değerlerinde DOX grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düşüş görüldü (sırasıyla $p= 0.002$, $p= 0.002$, $p= 0.003$). DOX+fındık zarı grubundaki düşüş DOX+fındık grubuna göre daha fazlaydı ($p= 0.025$). Testis dokusuna ait seminifer tübül kesitinin apoptotik değerlendirmesine ait resimler Resim 9a-f'de gösterilmiştir.

DOX grubunun epididim apoptotik indeksi, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yüksekti ($p= 0.002$). Buna karşılık DOX+fındık, DOX+fındık zarı ve DOX+E vitamini epididim apoptotik indeks değerleri, DOX grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düşük bulundu (sırasıyla $p= 0.002$, $p= 0.002$, $p= 0.002$). DOX+fındık zarı ve DOX+E vitamini gruplarına ait değerler DOX+fındık grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yüksekti (sırasıyla $p= 0.002$, $p= 0.002$). Buna ilaveten DOX+E vitamini grubu da DOX+fındık zarı grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yüksekti ($p= 0.002$). Epididimis dokusuna ait duktus epididimis kesitinin apoptotik değerlendirmesine ait resimler Resim 10a-f'de gösterilmiştir.

Fındık grubunun prostat apoptotik indeksi kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düşük ($p= 0.006$); DOX grubununki ise kontrol grubuna göre yüksek bulundu ($p= 0.002$). DOX+fındık ve DOX+fındık zarı grupları prostat apoptotik indeksi, DOX grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı düşük olduğu görüldü (sırasıyla $p=0.003$, $p= 0.018$). Buna karşılık DOX+E vitamini grubu prostat apoptotik indeks değerleri DOX+fındık ve DOX+fındık zarı gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı

yüksek olduğu izlendi (sırasıyla $p= 0.002$, $p= 0.006$). Prostat dokusuna ait kesitin apoptotik değerlendirmesine ait resimler Resim 11a-f’de gösterilmiştir.



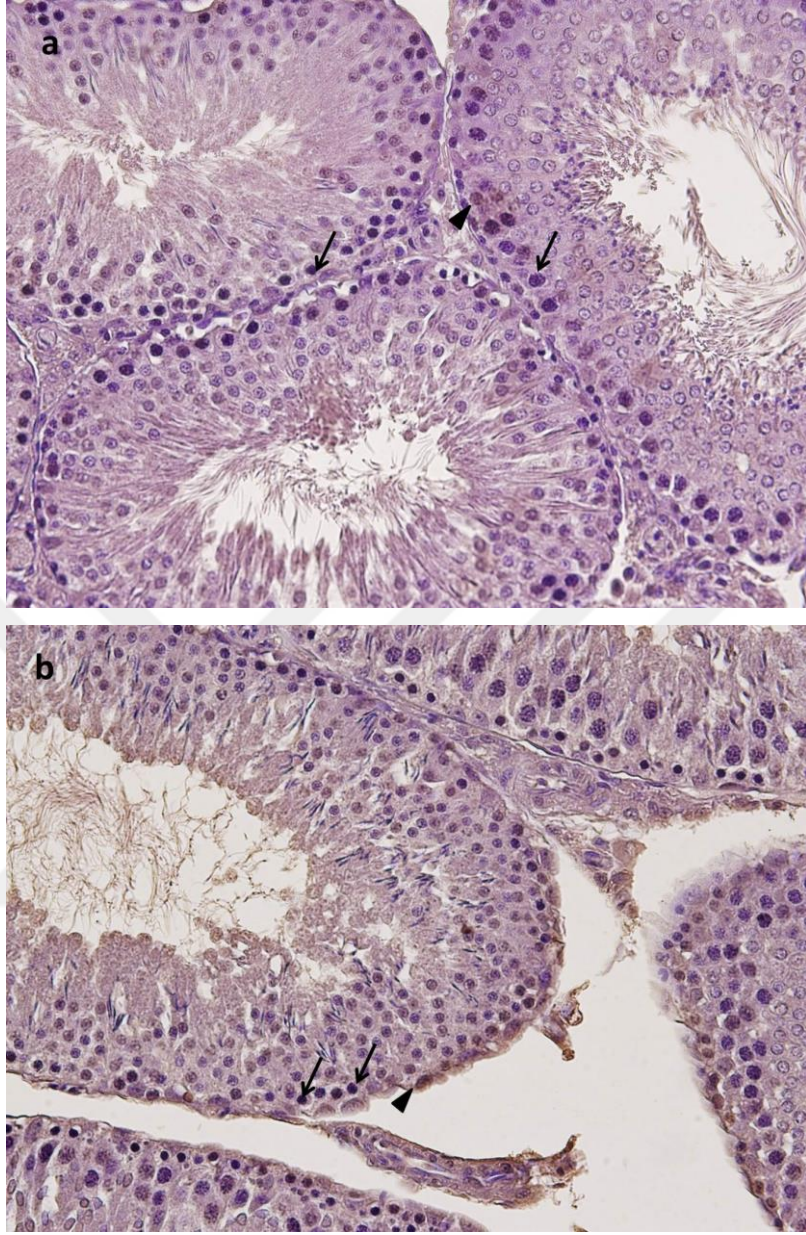
Tablo 16. Genç hayvanların Johnsen skoru ve apoptotik indeks bulguları (n= 8)

Parametreler	Kontrol	Fındık	DOX	DOX+Fındık	DOX+Fındık Zarı	DOX+E Vitamini
Testis Johnsen Skoru	9.35 (9.25 – 9.75)	9.80 ^a (9.75 – 10.0)	7.25 ^a (6.75 – 8.12)	8.75 ^c (8.25 – 9.00)	8.78 ^c (8.75 – 9.40)	8.26 ^c (7.88 – 9.00)
Testis Apoptotik İndeks (%)	12.8 (12.5 – 13.6)	12.6 (11.0 – 13.7)	40.4 ^a (34.3 – 55.6)	25.0 ^c (24.7 – 27.3)	18.6 ^{c,d} (17.6 – 20.0)	15.7 ^c (12.6 – 25.9)
Epididim Apoptotik İndeks (%)	20.7 (15.0 – 22.1)	13.0 (10.9 – 21.2)	43.0 ^a (38.9 – 48.0)	12.0 ^c (10.6 – 14.7)	24.1 ^{c,d} (18.8 – 25.9)	32.3 ^{c,d,e} (31.3 – 35.0)
Prostat Apoptotik İndeks (%)	8.60 (7.89 – 11.2)	2.94 ^a (1.20 – 3.56)	37.9 ^a (22.5 – 42.2)	11.0 ^c (8.90 – 15.0)	16.5 ^c (11.5 – 23.6)	35.0 ^{d,e} (33.4 – 38.0)

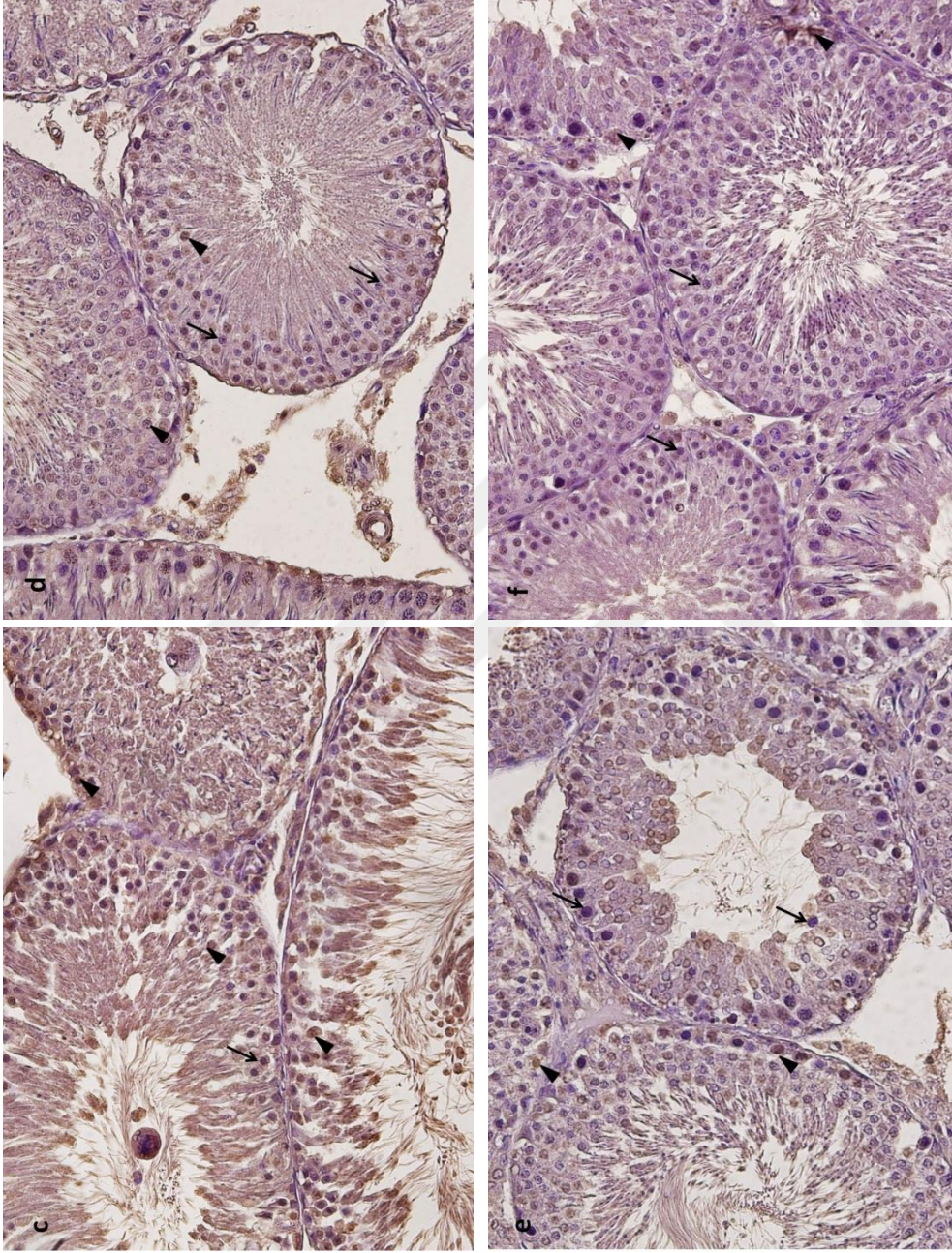
Değerler medyan ve çeyreklerarası aralık olarak verildi.

Gruplar arası karşılaştırmalar Kruskal Wallis Varyans analiziyle, ikili karşılaştırmalar Mann-Whitney U testi ile yapıldı.

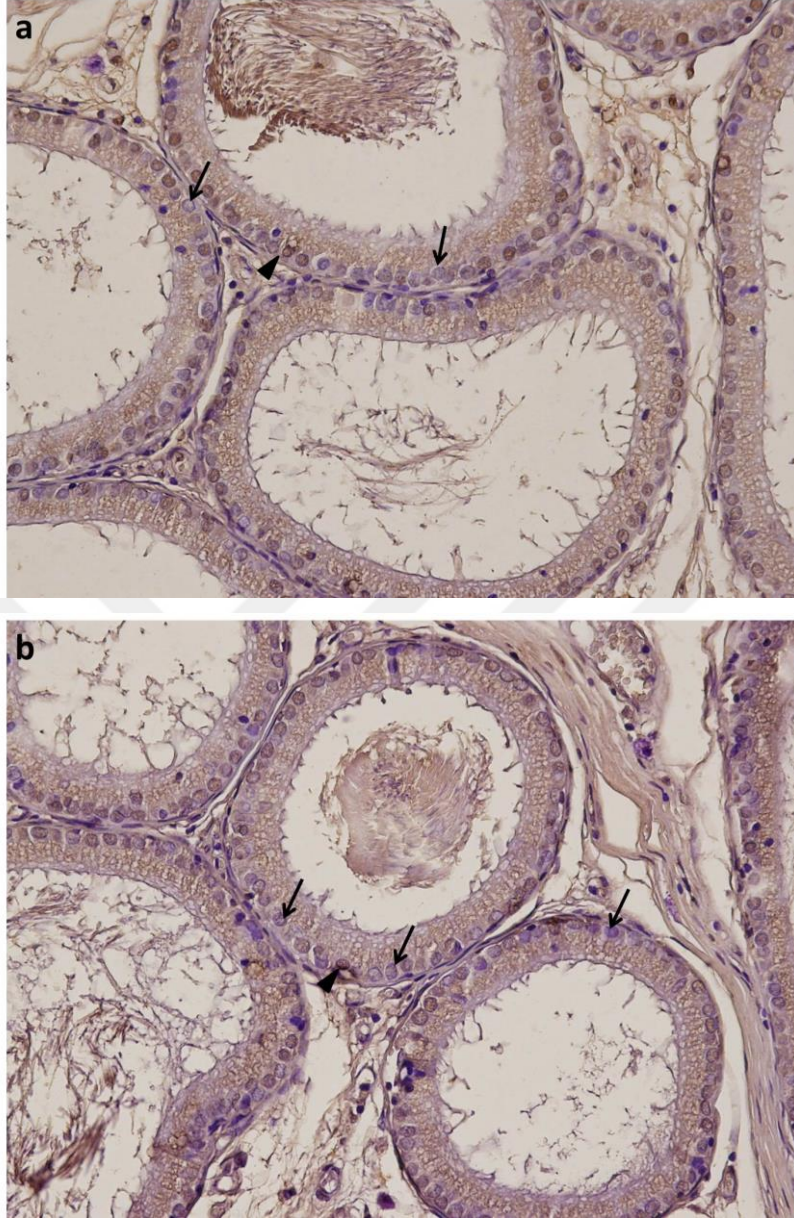
a: Kontrol grubuna göre, b: Fındık grubuna göre, c: DOX grubuna göre, d: DOX+Fındık grubuna göre, e: DOX+Fındık Zarı grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklı bulundu $p < 0.05$



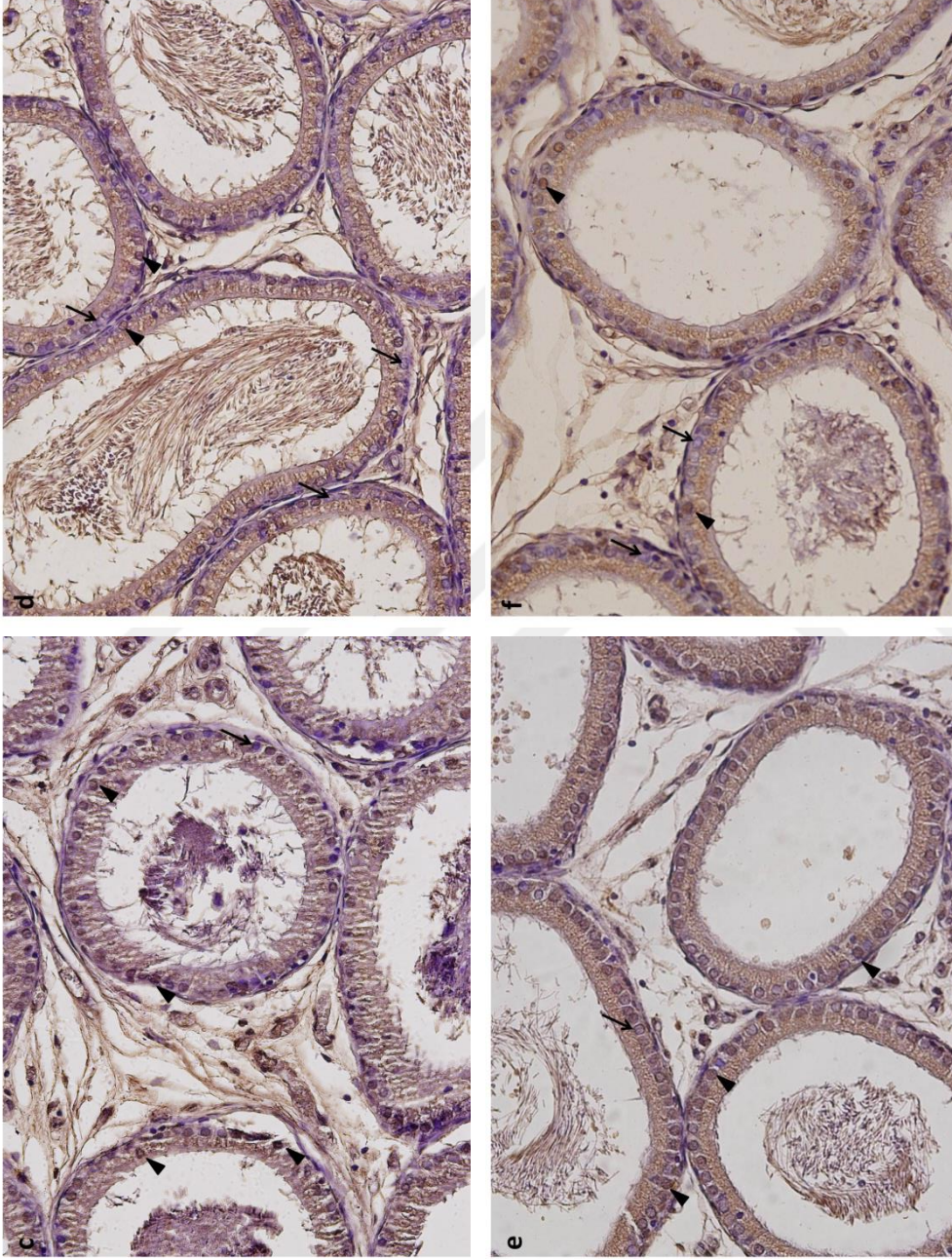
Resim 9. Testis dokusu seminifer tübül kesiti apoptotik değerlendirilmesi. **a:** Kontrol grubu, **b:** Fındık grubu. Apoptotik spermatogenetik hücreler (▲), normal spermatogenetik hücreler (↑). (TUNEL X400)



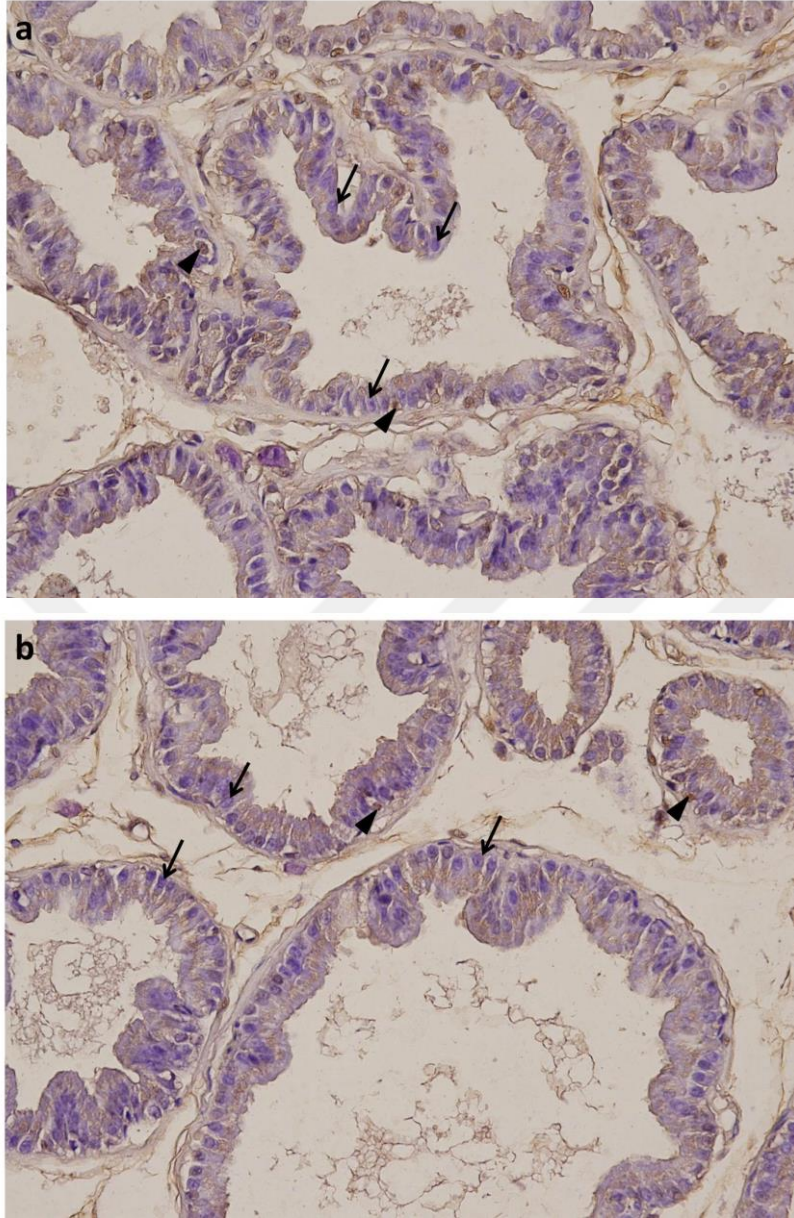
Resim 9. Testis dokusu seminifer tübül kesiti apoptotik değerlendirilmesi. **c:** DOX grubu, **d:** DOX+Fındık grubu, **e:** DOX+E Vitamini grubu, **f:** DOX+Fındık+E Vitamini grubu. Apoptotik spermatogenetik hücreler (▲), normal spermatogenetik hücreler (↑). (TUNEL X400)



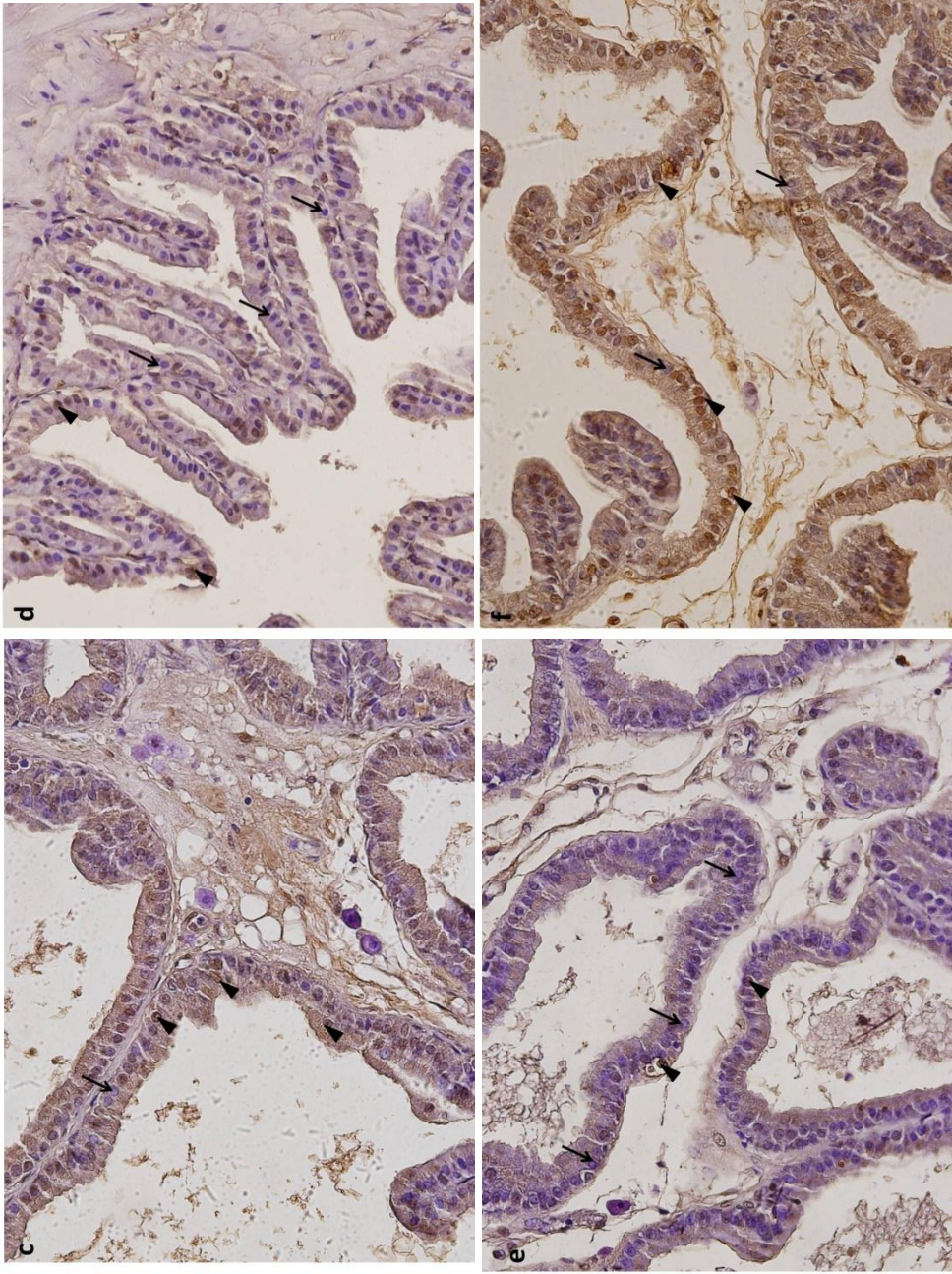
Resim 10. Epididimis dokusu duktus epididimis kesiti apoptotik değerlendirmesi. **a:** Kontrol grubu, **b:** Fındık grubu. Apoptotik hücreler (▲), normal hücreler (↑). (TUNEL X400)



Resim 10. Epididimis dokusu duktus epididimis kesiti apoptotik değerlendirilmesi. **c:** DOX+E Vitamin grubu. Apoptotik hücreler (▲), normal hücreler (↑). (TUNEL X400) **d:** DOX+Fındık grubu. Apoptotik hücreler (▲), normal hücreler (↑). (TUNEL X400) **e:** DOX+E Vitamin grubu. Apoptotik hücreler (▲), normal hücreler (↑). (TUNEL X400) **f:** DOX+Fındık grubu. Apoptotik hücreler (▲), normal hücreler (↑). (TUNEL X400)



Resim 11. Prostat dokusu kesiti apoptotik değerlendirmesi. **a:** Kontrol grubu, **b:** Fındık grubu. Apoptotik hücre(▲), normal hücre (↑).(TUNEL X400)



Resim 11. Prostat dokusu kesiti apoptotik değerlendirilmesi. **c:** DOX grubu, **d:** DOX+Findak grubu, **e:** DOX+findak zayıf grubu, **f:** DOX+vitamin E grubu. Apoptotik hücreler (▲), normal hücreler (→). (TUNEL X400)

6.2.1.2. Semen Analizine Ait Bulgular

Genç hayvanlara ait semen analizinde canlılık, hareketlilik ve total sayı değerlendirme sonuçları Tablo 17’de verilmiştir.

Sperm canlılık değerlerinde DOX grubunda, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı azalma bulundu ($p= 0.028$). Fındık grubu kontrol grubuna göre yüksek olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p= 0.095$). Yine DOX+fındık, DOX+fındık zarı ve DOX+E vitamini gruplarının sperm canlılık değerleri DOX grubuna göre yüksek olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı değildi (sırasıyla $p= 0.415$, $p= 0.120$, $p= 0.073$). Gruplara ait sperm canlılık yüzdeleri Şekil 13’de verilmiştir.

DOX grubuna ait sperm hareketliliği kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düşük bulundu ($p= 0.003$). Bunun yanında DOX+fındık, DOX+fındık zarı ve DOX+E vitamini gruplarının verilerinde DOX grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlemlendi (sırasıyla $p= 0.004$, $p= 0.004$, $p= 0.006$). Gruplara ait sperm hareketlilik yüzdeleri Şekil 14’de verilmiştir.

Sperm sayısı DOX grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düşük bulundu ($p= 0.025$). DOX+fındık ve DOX+fındık zarı gruplarının değerlerinde ise DOX grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek olduğu gözlemlendi (sırasıyla $p= 0.021$, $p= 0.012$). Gruplara ait sperm sayısı seviyeleri Şekil 15’de verilmiştir.

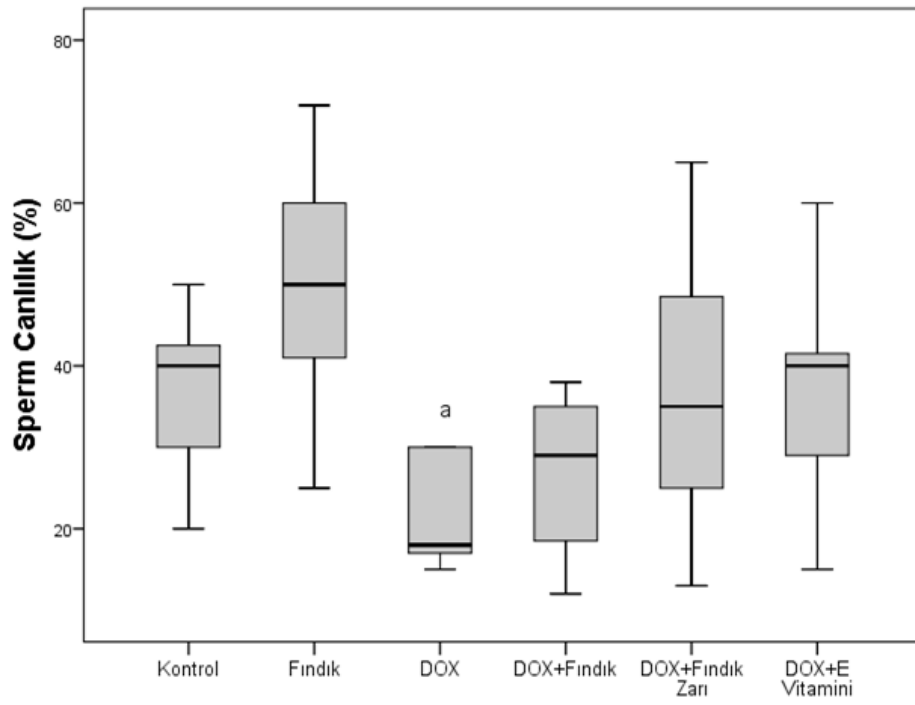
Tablo 17. Genç hayvanların semen analizine ait bulguları (n= 8)

Parametreler	Kontrol	Fındık	DOX	DOX+Fındık	DOX+Fındık Zarı	DOX+E Vitamini
Sperm Canlılık (%)	40.0 (25.0 – 45.0)	50.0 (37.0 – 69.0)	18.0 ^a (17.0 – 30.0)	29.0 (17.0 – 36.0)	35.0 (20.0 – 58.0)	40.0 (23.0 – 43.0)
Sperm Hareketlilik (%)	25.0 (14.3 – 41.7)	30.0 (20.0 – 66.7)	4.30 ^a (2.43 – 4.76)	13.33 ^c (9.09 – 16.7)	9.67 ^c (8.00 – 16.7)	13.7 ^c (8.33 – 16.2)
Sperm Sayısı (x 10⁶/mL)	53.0 (35.0 – 60.0)	51.0 (43.0 – 60.0)	27.0 ^a (21.0 – 41.0)	42.0 ^c (37.0 – 45.0)	42.0 ^c (32.0 – 44.0)	37.0 (25.0 – 46.0)

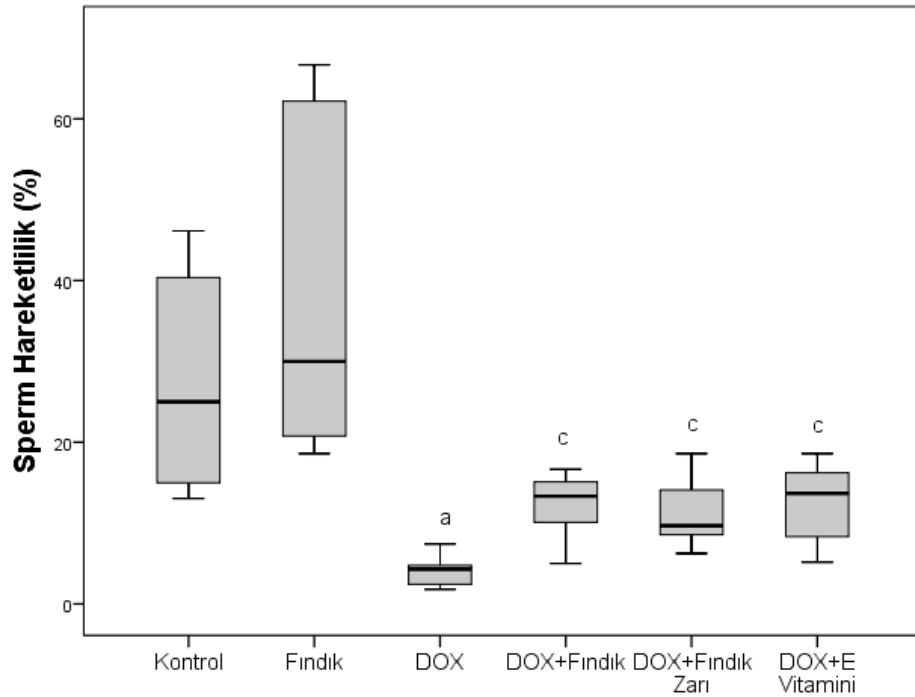
Değerler medyan ve çeyreklerarası aralık olarak verildi.

Gruplar arası karşılaştırmalar Kruskal Wallis Varyans analiziyle, ikili karşılaştırmalar Mann-Whitney U testi ile yapıldı.

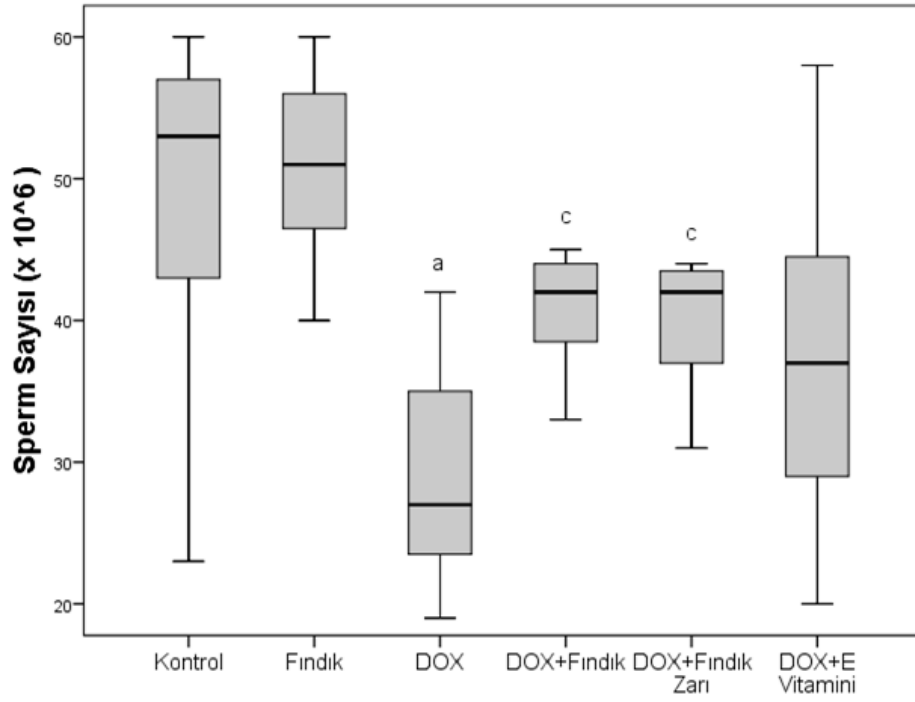
a: Kontrol grubuna göre, b: Fındık grubuna göre, c: DOX grubuna göre, d: DOX+Fındık grubuna göre, e: DOX+Fındık Zarı grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklı bulundu $p < 0.05$



Şekil 13. Genç hayvanlarda sperm canlılık seviyelerinin gruplara göre dağılımı.
a: Kontrol grubuna göre $p = 0.028$ düzeyinde anlamlıdır.



Şekil 14. Genç hayvanlarda sperm hareketlilik seviyelerinin gruplara göre dağılımı.
a: Kontrol grubuna göre $p = 0.003$, **c:** DOX grubuna göre sırasıyla $p = 0.004$, $p = 0.004$, $p = 0.006$ düzeyinde anlamlıdır.



Şekil 15. Genç hayvanlarda sperm sayısı seviyelerinin gruplara göre dağılımı. **a:** Kontrol grubuna göre $p=0.025$, **c:** DOX grubuna göre sırasıyla $p=0.021$, $p=0.012$ düzeyinde anlamlıdır.

6.2.2. Genç Hayvanların Biyokimyasal Verilerine Ait Bulgular

6.2.2.1. Sperm Örneklerine Ait Biyokimyasal Bulgular

Genç hayvanların sperm örneklerinde ölçülen GPx, GSH/GSSG, MDA ve E vitamin seviyeleri Tablo 18’de verilmiştir.

Fındık grubunun GPx değerleri kontrol grubuna göre yüksek, DOX grubunun GPx değerleri ise hem kontrol hem de fındık grubuna göre yüksek olduğu izlendi. Bununla beraber DOX+fındık, DOX+fındık zarı ve DOX+E vitamini gruplarının GPx değerleri ise DOX grubuna göre daha düşük olduğu görüldü. Ancak bu bulgular istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p=0.843$).

GSH/GSSG değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p=0.710$).

Fındık grubunun MDA değerlerinin kontrol grubuna göre daha düşük olduğu görüldü ancak istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p=0.064$). DOX+fındık, DOX+fındık zarı ve DOX+E vitamini gruplarının MDA değerlerinin DOX grubuna göre istatistiksel

olarak anlamlı düşük olduğu izlendi (sırasıyla $p= 0.004$, $p= 0.032$, $p= 0.032$). Gruplara ait MDA seviyeleri Şekil 16’da verilmiştir.

Fındık grubunun E vitamini değeri kontrol grubuna göre yüksek, DOX grubunun E vitamini değeri ise kontrol grubuna göre yüksek ancak fındık grubuna göre düşük bulundu. Bu bulgular istatistiksel olarak anlamlı değildi (sırasıyla $p= 0.277$, $p= 0.142$, $p= 0.565$). DOX+fındık ve DOX+E vitamini gruplarının E vitamini değerlerinin, DOX grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek olduğu izlendi (sırasıyla $p= 0.028$, $p= 0.048$). DOX+fındık zarf grubunun E vitamini değeri de DOX grubuna göre yüksek olduğu görüldü ancak istatistiksel olarak anlamlılık yoktu ($p= 0.063$). Gruplara ait E vitamini seviyeleri Şekil 17’de verilmiştir.

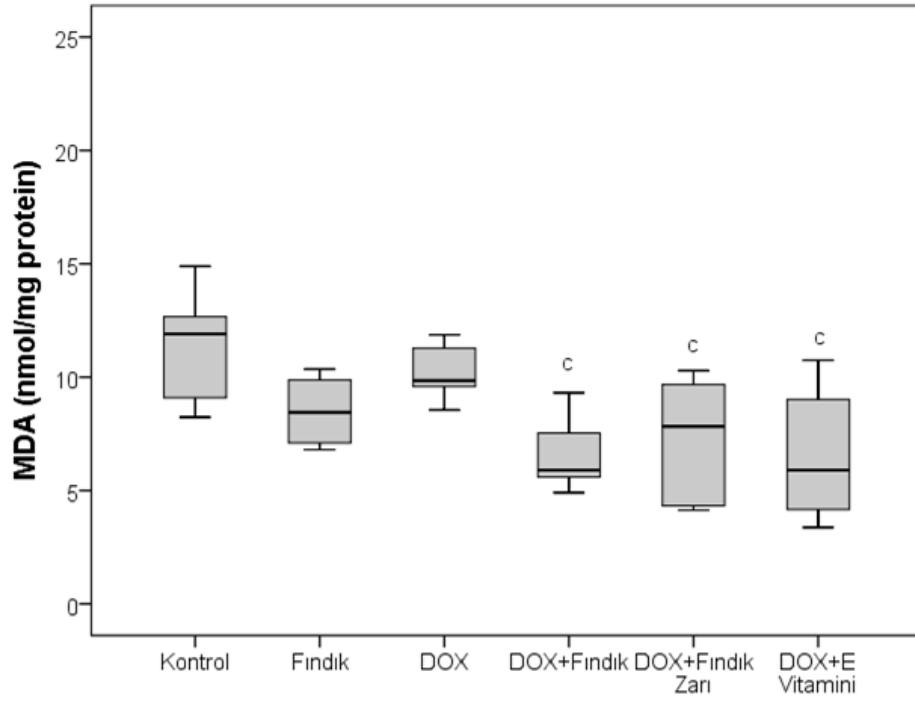
Tablo 18. Genç hayvanların sperm örneklerine ait GPx, GSH/GSSG, MDA ve E vitamini bulguları (n=8)

Parametreler	Kontrol	Fındık	DOX	DOX+Fındık	DOX+Fındık Zarı	DOX+E Vitamini
GPx (nmol/dk/mg protein)	28.0 (23.1 – 51.8)	35.4 (19.2 – 35.7)	41.27 (32.4 – 46.8)	40.9 (24.9 – 73.8)	28.5 (25.6 – 47.9)	38.4 (16.0 – 48.9)
GSH/GSSG	0.43 (0.34 – 0.45)	0.36 (0.33 – 0.39)	0.40 (0.33 – 0.48)	0.38 (0.36 – 0.43)	0.40 (0.34 – 0.55)	0.40 (0.34 – 0.44)
MDA (nmol/mg protein)	11.9 (8.43 – 12.8)	8.44 (6.93 – 10.1)	9.85 (9.34 – 11.9)	5.90 ^c (5.59 – 7.54)	7.83 ^c (4.34 – 9.68)	5.90 ^c (4.17 – 9.02)
E Vitamini (µg/mL)	0.27 (0.21 – 0.36)	0.41 (0.29 – 0.59)	0.38 (0.31 – 0.45)	0.56 ^c (0.52 – 0.96)	0.63 (0.41 – 0.86)	0.76 ^c (0.44 – 1.04)

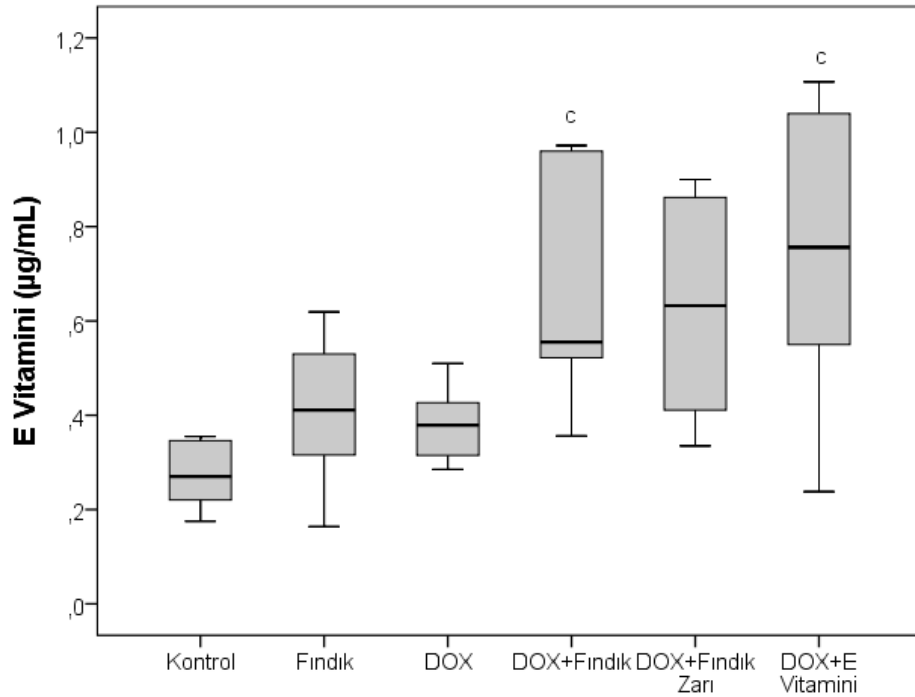
Değerler medyan ve çeyreklerarası aralık olarak verildi.

Gruplar arası karşılaştırmalar Kruskal Wallis Varyans analiziyle, ikili karşılaştırmalar Mann-Whitney U testi ile yapıldı.

a: Kontrol grubuna göre, b: Fındık grubuna göre, c: DOX grubuna göre, d: DOX+Fındık grubuna göre, e: DOX+Fındık Zarı grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklı bulundu $p < 0.05$



Şekil 16. Genç hayvanlarda sperm MDA seviyelerinin gruplara göre dağılımı. **c:** DOX grubuna göre sırasıyla $p=0.004$, $p=0.032$, $p=0.032$ düzeyinde anlamlıdır.



Şekil 17. Genç hayvanlarda sperm E vitamini seviyelerinin gruplara göre dağılımı. **c:** DOX grubuna göre sırasıyla $p=0.028$, $p=0.048$ düzeyinde anlamlıdır.

6.2.2.2. Plazma Örneklerine Ait Biyokimyasal Bulgular

Genç hayvanların plazma örneklerine ait bulgular Tablo 19’da verilmiştir. Buna göre fındık grubunun plazma GPx değeri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu ($p= 0.045$). DOX grubunun plazma GPx seviyesi de kontrol grubuna yüksekti ($p= 0.517$). DOX+fındık grubu GPx değeri DOX grubuna göre yüksek olmasına rağmen ($p= 0.793$) DOX+fındık zarı grubu DOX grubuna göre düşüktü ($p= 0.055$). DOX+E vitamini grubunun GPx değeri DOX grubunun değeriyle aynıydı ($p= 0.746$). Ancak bulgular istatistiksel olarak anlamlı değildi. DOX+fındık zarı grubu GPx değeri DOX+fındık grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düşük bulundu ($p= 0.032$). Gruplara ait GPx seviyeleri Şekil 18’de verilmiştir.

Fındık grubunun GSH/GSSG oranının kontrol grubuna göre yüksek, DOX grubunun GSH/GSSG oranının hem fındık hem de kontrol grubuna göre düşük olduğu izlendi. DOX+fındık, DOX+fındık zarı ve DOX+E vitamini gruplarında bu oranın DOX grubuna göre yüksek olduğu görüldü. Fakat bu bulgular istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p= 0.829$).

Fındık grubunun MDA değerleri kontrol grubuna göre düşük bulundu ($p= 0.004$). DOX grubunun MDA değerleri kontrol grubuna göre yüksek izlendi, ancak istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p= 0.394$). DOX+fındık ve DOX+fındık zarı gruplarının MDA değerlerinin DOX grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düşük olduğu görüldü (sırasıyla $p= 0.030$, $p= 0.008$). Gruplara ait MDA seviyeleri Şekil 19’da verilmiştir.

Fındık grubunun testosteron değerleri kontrol grubuna göre yüksek bulundu ancak istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p= 0.361$). DOX+fındık grubunun testosteron değerleri DOX grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yüksekti ($p= 0.012$). DOX+E vitamini grubunun bu değerleri ise fındık grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düşüktü ($p= 0.028$). Gruplara ait testosteron seviyeleri Şekil 20’de verilmiştir.

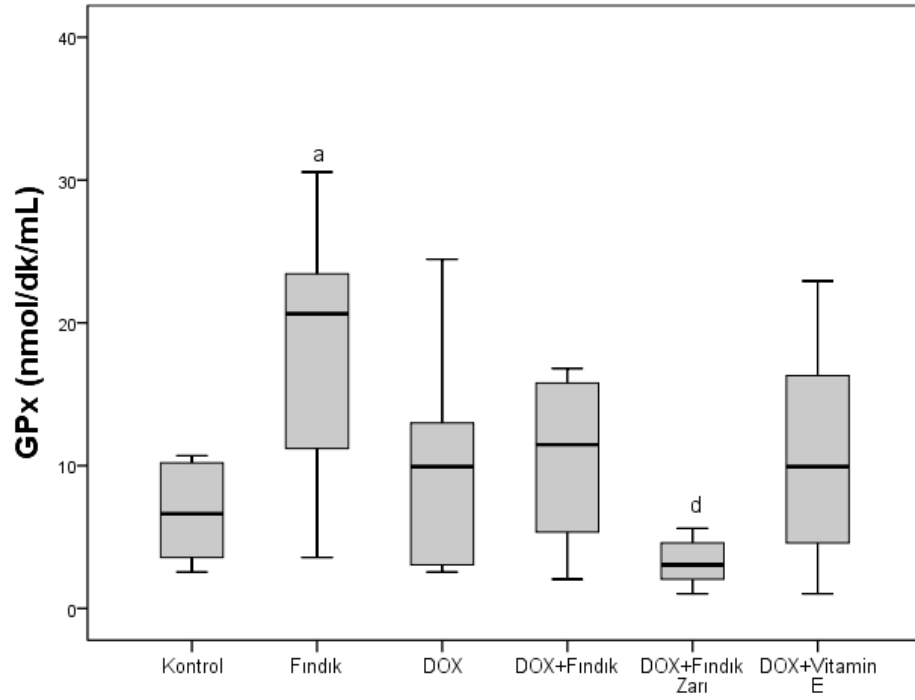
Tablo 19. Genç hayvanların plazma örneklerine ait GPx, GSH/GSSG, MDA ve Testosteron bulguları (n= 8)

Parametreler	Kontrol	Fındık	DOX	DOX+Fındık	DOX+Fındık Zarı	DOX+E Vitamini
GPx (nmol/dk/mL)	6.62 (3.57 – 10.2)	20.6 ^a (11.2 – 23.4)	9.93 (3.06 – 13.0)	11.5 (5.35 – 15.8)	3.06 ^d (1.53 – 5.09)	9.93 (4.58 – 16.3)
GSH/GSSG	0.27 (0.22 – 0.31)	0.31 (0.17 – 0.47)	0.20 (0.17 – 0.31)	0.28 (0.23 – 0.52)	0.30 (0.25 – 0.39)	0.27 (0.18 – 0.46)
MDA (nmol/mL)	1.30 (1.05 – 1.61)	0.67 ^a (0.37 – 0.77)	1.38 (1.22 – 2.32)	0.73 ^c (0.64 – 1.15)	0.76 ^c (0.65 – 1.08)	1.33 (0.53 – 1.75)
Testosteron (mg/dL)	8.00 (1.78 – 9.07)	8.36 (7.84 – 11.7)	3.93 (3.51 – 7.67)	9.91 ^c (8.15 – 11.2)	10.1 (5.81 – 11.7)	4.69 ^d (2.70 – 7.57)

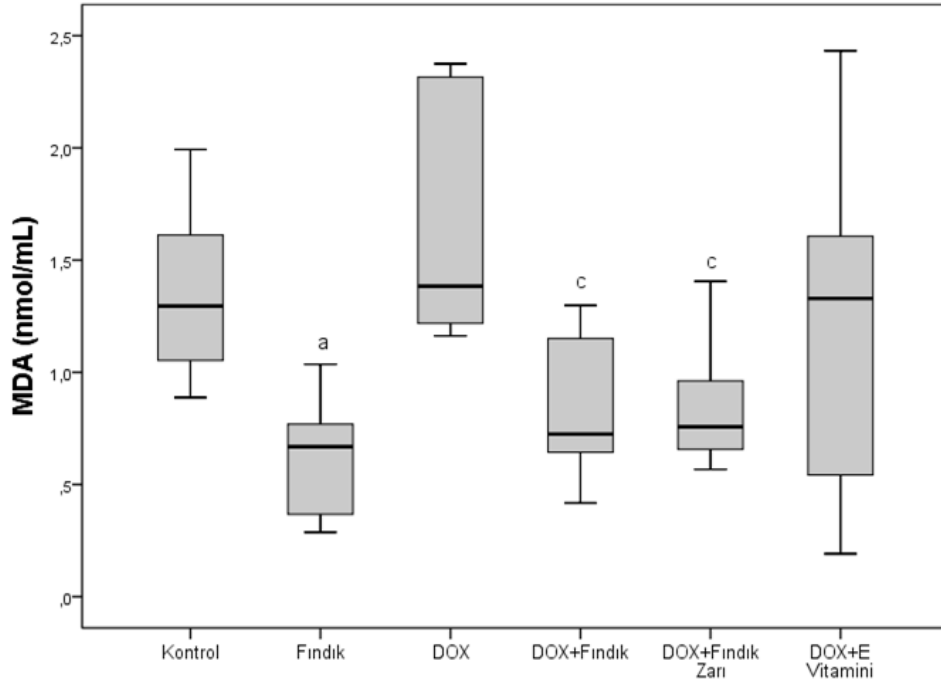
Değerler medyan ve çeyreklerarası aralık olarak verildi.

Gruplar arası karşılaştırmalar Kruskal Wallis Varyans analiziyle, ikili karşılaştırmalar Mann-Whitney U testi ile yapıldı.

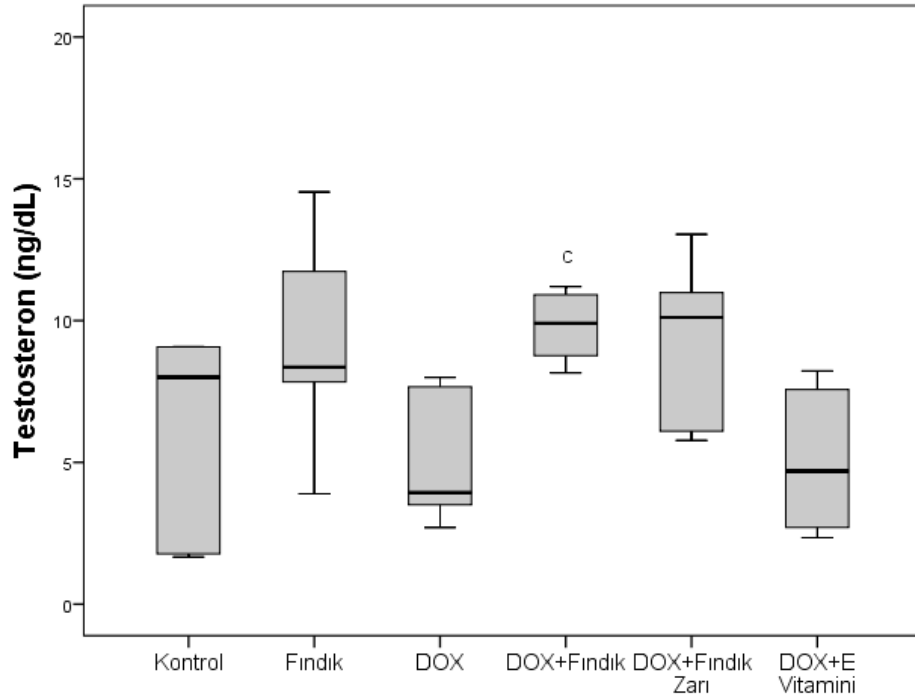
a: Kontrol grubuna göre, b: Fındık grubuna göre, c: DOX grubuna göre, d: DOX+Fındık grubuna göre, e: DOX+Fındık Zarı grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklı bulundu $p < 0.05$



Şekil 18. Genç hayvanlarda plazma GPx seviyelerinin gruplara göre dağılımı. **a:** Kontrol grubuna göre $p=0.045$, **d:** DOX+Fındık grubuna göre $p=0.032$ düzeyinde anlamlıdır.



Şekil 19. Genç hayvanlarda plazma MDA seviyelerinin gruplara göre dağılımı. **a:** Kontrol grubuna göre sırasıyla $p=0.004$, $p=0.003$, **c:** DOX grubuna göre sırasıyla $p=0.030$, $p=0.008$ düzeyinde anlamlıdır.



Şekil 20. Genç hayvanlarda plazma testosteron seviyelerinin gruplara göre dağılımı. c: DOX grubuna göre p= 0.012 düzeyinde anlamlıdır.

6.2.2.3. Diğer Doku Örneklerine Ait Bulgular

Tablo 20’de genç hayvanların testis, epididimis ve prostat dokularında ölçülen GPx ve MDA seviyeleri verilmiştir.

Testis dokusunda; fındık grubunun GPx değerlerinin kontrol ve DOX gruplarına göre yüksek olduğu izlendi. DOX+fındık, DOX+fındık zarı ve DOX+E vitamini gruplarının değerleri DOX grubu ile karşılaştırıldığında yüksek olduğu görüldü. Fakat bu bulgular istatistiksel olarak anlamlı değildi (p= 0.210). Fındık grubunun MDA değeri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düşük bulundu (p= 0.048). DOX grubunun MDA değerleri ise kontrol grubuna göre düşük, fındık grubuna göre yüksekti. Ancak bu veriler istatistiksel olarak anlamlı değildi (sırasıyla p= 0.406, p= 0.180). DOX+fındık ve DOX+fındık zarı gruplarının MDA değerleri DOX grubuna göre düşüktü. Ancak istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (sırasıyla p= 0.225, p= 0.225). Buna karşılık DOX+E vitamini grubunun MDA değerleri DOX ve DOX+fındık zarı gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı düşüktü (sırasıyla p= 0.025, p= 0.035).

Epididimis dokusunda; fındık grubu GPx değerlerinin kontrol grubuna göre yüksek olduğu görüldü. DOX grubunun GPx değerleri hem kontrol hem de fındık

gruplarına göre düşük bulundu. DOX+findık, DOX+findık zarı ve DOX+E vitamini gruplarının MDA değerleri ise DOX grubuna göre yüksekti. Ancak bu bulgular istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p= 0.176$). Findık grubunun MDA değerleri kontrol ve DOX gruplarına göre düşüktü, ancak istatistiksel olarak anlamlı değildi (sırasıyla $p= 1.000$, $p= 0.475$). DOX+findık ve DOX+E vitamini gruplarının MDA değerlerinin DOX grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düşük olduğu görüldü (sırasıyla $p= 0.025$, $p= 0.048$). DOX+findık zarı grubu MDA değerleri DOX+findık grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu ($p= 0.035$).

Prostat dokusunda; findık grubu GPx değerleri kontrol grubuna göre yüksek, DOX grubunun GPx hem kontrol hem de findık grubuna göre düşüktü. Ancak istatistiksel olarak anlamlı değildi (sırasıyla $p= 0.080$, $p= 0.584$, $p= 0.199$). DOX+findık ve DOX+findık zarı grupları GPx değerlerinin DOX grubuna göre yüksek olduğu görüldü. Ancak DOX+E vitamini grubu GPx değerleri DOX grubuna göre düşüktü. Bu veriler istatistiksel olarak anlamlı değildi (sırasıyla $p= 0.749$, $p= 0.715$, $p= 0.522$). Findık grubu MDA değerleri kontrol grubuna göre düşük, DOX grubu hem kontrol hem de findık grubuna göre yüksekti. Ancak istatistiksel olarak anlamlılık yoktu (sırasıyla $p= 0.086$, $p= 0.775$, $p= 0.142$). DOX+findık ve DOX+findık zarı grupları MDA değerlerinin DOX grubuna göre düşük olduğu izlendi, fakat istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (sırasıyla $p= 0.482$, $p= 0.482$). DOX+E vitamini grubu MDA değerleri DOX, DOX+findık ve DOX+findık zarı gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı düşük bulundu (sırasıyla $p= 0.032$, $p= 0.015$, $p= 0.015$).

Tablo 20. Genç hayvanlarda diğer doku örneklerine ait GPx ve MDA bulguları (n= 8)

Dokular	Parametreler	Kontrol	Fındık	DOX	DOX+Fındık	DOX+Fındık Zarı	DOX+E Vitamini
Testis	GPx (nmol/dk/mg protein)	26.0 (21.5 – 30.0)	30.0 (27.7 – 36.8)	18.6 (13.7 – 26.4)	22.1 (19.6 – 30.7)	25.2 (21.5 – 32.8)	24.2 (20.4 – 28.0)
	MDA (nmol/mg protein)	9.17 (6.88 – 11.5)	6.50 ^a (5.72 – 7.27)	8.96 (6.23 – 10.5)	6.18 (4.47 – 6.57)	6.75 (5.14 – 7.49)	4.50 ^{c, e} (2.45 – 5.15)
Epididim	GPx (nmol/dk/mg protein)	32.6 (27.5 – 37.8)	35.7 (31.0 – 47.8)	25.7 (20.3 – 44.8)	37.4 (31.5 – 58.0)	52.0 (19.0 – 69.1)	64.8 (51.3 – 77.2)
	MDA (nmol/mg protein)	23.9 (21.9 – 29.8)	25.4 (21.7 – 29.9)	24.4 (20.4 – 36.2)	18.3 ^c (16.3 – 22.5)	26.1 ^d (20.0 – 27.0)	19.5 ^c (18.4 – 22.2)
Prostat	GPx (nmol/dk/mg protein)	13.9 (10.4 – 20.9)	20.8 (10.3 – 40.0)	13.5 (3.78 – 29.8)	15.1 (9.75 – 26.1)	14.9 (13.1 – 19.3)	7.67 (5.21 – 17.9)
	MDA (nmol/mg protein)	9.01 (5.01 – 9.82)	3.84 (2.64 – 6.66)	9.21 (3.34 – 13.2)	7.17 (5.14 – 8.46)	6.25 (5.51 – 9.73)	2.62 ^{c, d, e} (1.79 – 2.69)

Değerler medyan ve çeyreklerarası aralık olarak verildi.

Gruplar arası karşılaştırmalar Kruskal Wallis Varyans analiziyle, ikili karşılaştırmalar Mann-Whitney U testi ile yapıldı.

a: Kontrol grubuna göre, b: Fındık grubuna göre, c: DOX grubuna göre, d: DOX+Fındık grubuna göre, e: DOX+Fındık Zarı grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklı bulundu $p < 0.05$

6.3. Yaşlı Hayvanlara Ait Bulgular

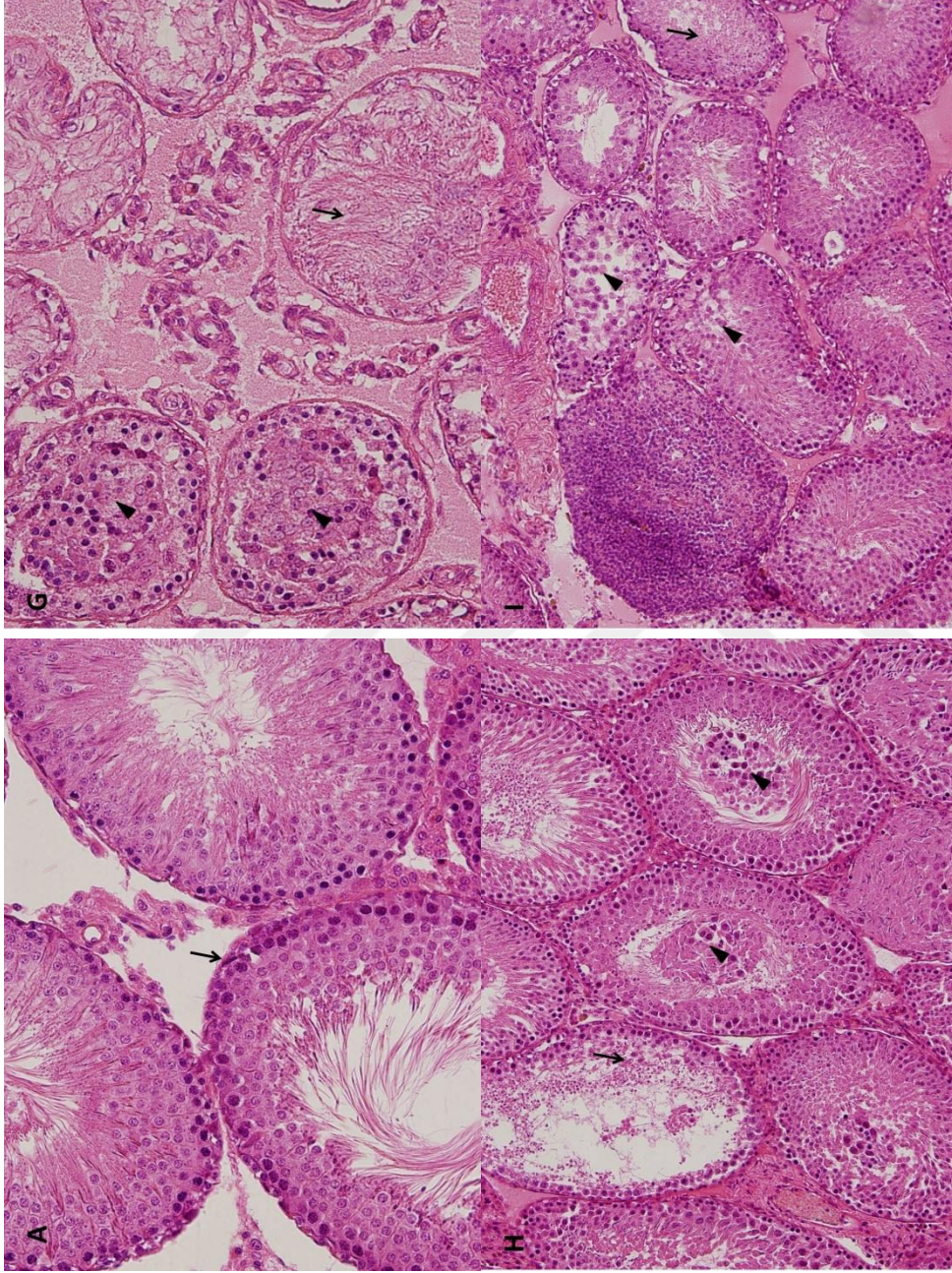
6.3.1. Yaşlı Hayvanların Histopatolojik Verilerine Ait Bulgular

6.3.1.1. Morfolojik Bulgular

Yaşlı hayvanlara ait testis dokularının ışık mikroskobu genel görünümleri Resim 12' de verilmiştir. Genç kontrol grubunda normal morfolojide seminifer tübül epitel yapısı ile birlikte kanal lümeninde çok sayıda spermiyum olduğu izlendi (Resim 12A). Yaşlı kontrol grubunda seminifer tübülü döşeyen epitelyal hücrelerde vakuolizasyonlar, yoğun apoptozis ve hücre kaybı izlendi. Aralarında düzensiz yerleşimli germinal epitel hücreli tübül yapıları mevcuttu. Ayrıca lümeni olgunlaşmamış germinal epitelyum hücreleri ile dolu olan tübül yapıları gözlendi (Resim 12G). Yer yer testis dokusunda lipid birikimi ve fibrozis izlendi

Fındık grubunda ise seminifer tübül yapısı normale yakın morfolojide idi. Bazı tübüllerde germinal epitel hücrelerinde dejenerasyon ve kayıp izlendi. Genel olarak germinal epitelin lümenine doğru yığılma gösterdiği, lümeni olgunlaşmamış germinal epitel hücrelerinin doldurduğu tübül yapıları izlendi (Resim 12H).

E vitamini grubunda seminifer tübül yapısı normale yakın morfolojide izlendi. Bununla birlikte germinal epitel hücrelerinde kayıp, dejenerasyon ve vakuolizasyon mevcut idi. Lümeninde olgunlaşmamış germinal epitel hücreleri ve yer yer spermiyumlar izlendi (Resim 12I).



Resim 12. Testis dokusu seminifer tübül kesiti. **A:** Genç Kontrol grubu, **G:** Yaşlı Kontrol grubu, **H:** Fındık grubu, **I:** E vitamini grubu. Seminifer tübül epitel hücrelerinde kayıp (↑), tübül lümeninde olgunlaşmamış germinal epitel hücreleri (▲). (H&E X400)

Yaşlı hayvanlara ait epididimis dokularının ışık mikroskobu genel görünümüleri Resim 13’de verilmiştir. Genç kontrol grubunun duktus epididimise ait kanalı döşeyen düzgün yapıdaki yalancı çok katlı sterosilyumlu prizmatik epitel hücreleri ve kanal lümeninde spermiyumlar izlendi (Resim 13A). Genç kontrol grubunda kanalı döşeyen epitelyal hücrelerde vakuolizasyonlar, yoğun apoptozis izlendi. İlave olarak epitelyal hücrelerin sterosilyumlarında azalma görüldü. Kanal lümeninde spermiyum az ya da yoktu. Bazı kesitlerde lümende dökülmüş germinal hücreler izlendi (Resim 13G).

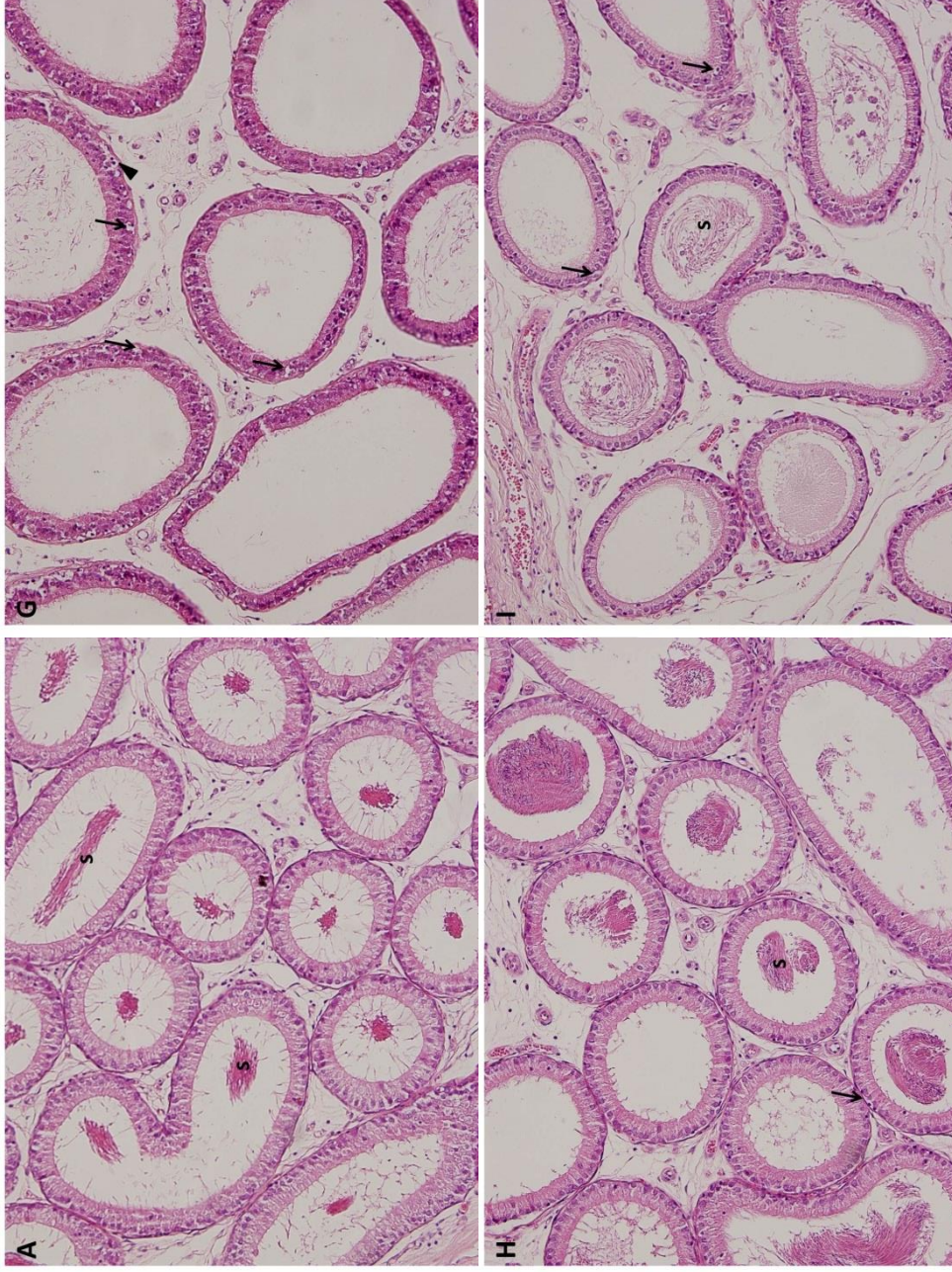
Fındık grubunda ise epididimal kanala ait epitel hücrelerinin hem kontrol grubuna hem de E vitamini grubuna göre daha az vakuol içerdiği görüldü. Kanal lümeninde ise bol miktarda spermiyum izlenirken germinal hücre görülmedi (Resim 13H).

E vitamini grubunda kanal lümeninde spermiyumların yanında kontrol grubunda olduğu gibi dökülmüş germinal hücre bulunduğu tespit edildi. Ancak epitelyal vakuolizasyonun kontrol grubuna göre azalmış olduğu izlendi (Resim 13I).

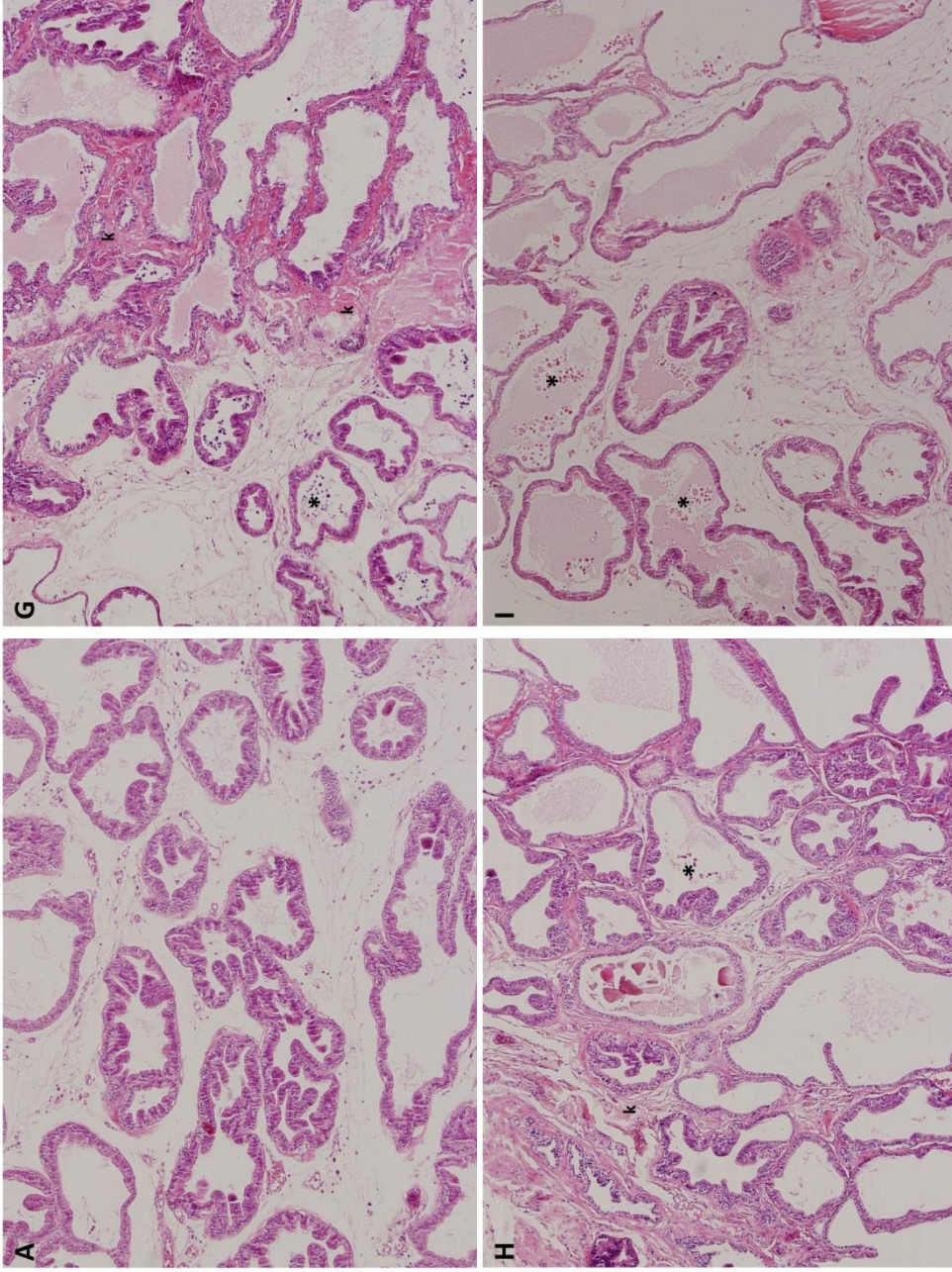
Yaşlı hayvanlara ait prostat dokularının ışık mikroskobu genel görünümüleri Resim 14’de verilmiştir. Genç kontrol grubunda normal prostat yapısına özgü düz kas lifleri içeren fibroelastik bağ dokusu ile çevrili tubuloalveoler bez kesitleri görüldü. Bez lümenlerinin tek katlı prizmatik ve yer yer yalancı çok katlı prizmatik epitel ile düzenli bir şekilde çevrelendiği gözlemlendi (Resim 14A). Yaşlı kontrol grubunda bez epitelinde apoptotik hücreler ve vakuolizasyonlar, bez lümenlerinde korpora amilasea, stromada ise yoğun kollajen lif artışı olduğu görüldü (Resim 14G).

Fındık grubunda ise bez yapılarının ve bez epitelinin kontrol grubuna göre daha düzgün görüldüğü, epitelial vakuollerin ve stromal kollajen artışının kontrol grubuna göre kalitatif olarak daha az olduğu izlendi (Resim 14H).

E vitamini grubunda bez yapılarının ve bez epitelinin kontrol grubuna göre daha düzgün görüldüğü, epitelial vakuollerin ve stromal kollajen artışının hem kontrol hem de fındık gruplarına göre kalitatif olarak daha az olduğu izlendi (Resim 14I).



Resim 13. Epididimis dokusu duktus epididimis kesiti. **A:** Genç Kontrol grubu, **G:** Yaşlı Kontrol grubu, **H:** Fındık grubu, **I:** E vitamin grubu. Vakuoller (v), apoptoz (▲), spermiumlar (s). (H&E X200)



Resim 14. Prostat dokusu kesiti. **A:** Genç Kontrol grubu, **G:** Yaşlı Kontrol grubu, **H:** Fındık grubu, Kollajen lif (k). **I:** E vitamini grubu. Korpora amilasea (*). (H&E X100).

Genç kontrol ve yaşlı hayvanların Johnsen testis hasar skorlaması ile; testis, epididim ve prostat dokularının Apoptotik İndeksleri (AI) sonuçları Tablo 21’de verilmiştir.

Testis dokusunda; yaşlı kontrol grubunun Johnsen skorlaması genç kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düşük izlendi ($p= 0.000$). Fındık grubu Johnsen skorlaması yaşlı kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu ($p= 0.003$). Buna karşılık E vitamini grubunun Johnsen skorlaması değerlerinin fındık grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düşük olduğu gözlemlendi ($p= 0.001$).

Testis dokusunda; yaşlı kontrol grubunun apoptotik indeks değeri genç kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu ($p= 0.001$). Ayrıca yaşlı kontrol grubunun apoptotik indeks değerleri fındık ve E vitamini gruplarına göre yüksek izlendi. Ancak bu bulgular istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p= 0.366$). Testis dokusuna ait seminifer tübül kesitinin apoptotik değerlendirmesine ait resimler Resim 15a, g-1’de gösterilmiştir.

Epididimis dokusunda; yaşlı kontrol grubunun apoptotik indeks değeri genç kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek izlendi ($p= 0.001$). Buna karşılık fındık grubu apoptotik indeks değerleri yaşlı kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düşük bulundu ($p= 0.003$). Bununla beraber E vitamini grubunun apoptotik indeks değerleri de yaşlı kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düşük olduğu görüldü ($p= 0.004$). Epididimis dokusuna ait duktus epididimis kesitinin apoptotik değerlendirmesine ait resimler Resim 16a, g-1’de gösterilmiştir.

Prostat dokusunda; yaşlı kontrol grubu apoptotik indeks değeri genç kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu ($p= 0.000$). Fındık grubu apoptotik indeksi yaşlı kontrol grubuna göre düşüktü, fakat istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p= 0.668$). Buna karşılık E vitamini grubu apoptotik indeks değerleri hem yaşlı kontrol ve hem de fındık grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düşük olduğu görüldü (sırasıyla $p= 0.006$, $p= 0.012$). Prostat dokusu kesitinin apoptotik değerlendirmesine ait resimler Resim 17a, g-1’de gösterilmiştir.

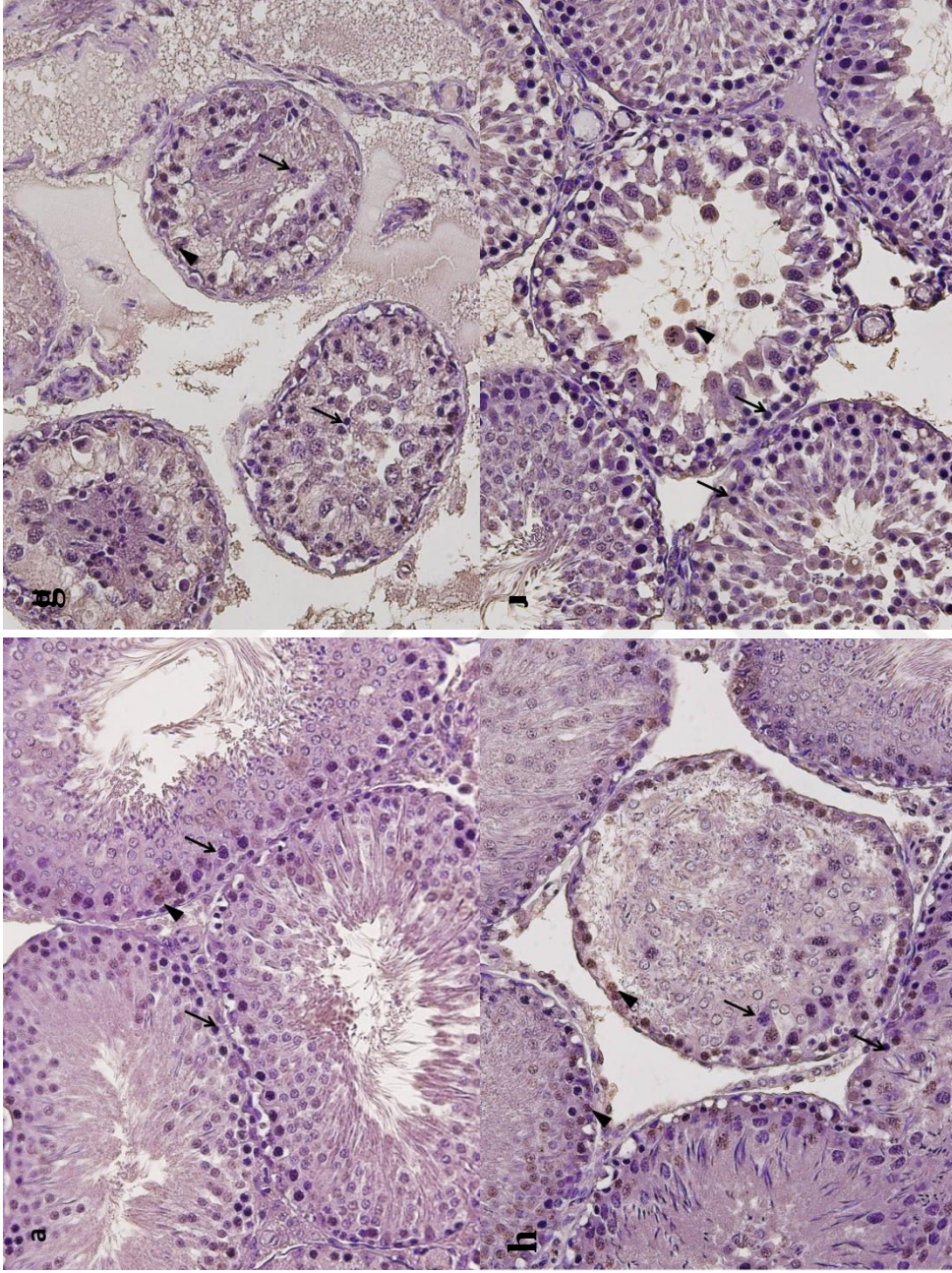
Tablo 21. Genç kontrol ve yaşlı hayvanların Johnsen skoru ve apoptotik indeks bulguları (n= 8)

Parametreler	Genç Kontrol	Yaşlı Kontrol	Yaşlı Fındık	Yaşlı E vitamini
Testis Johnsen Skoru	9.35 (9.25 – 9.75)	8.00 ^a (7.12 – 8.37)	9.00 ^b (8.90 – 9.12)	8.00 ^c (7.85 – 8.00)
Testis Apoptotik İndeks (%)	12.8 (12.5 – 13.6)	29.1 ^a (23.8 – 30.4)	22.3 (15.9 – 24.0)	18.8 (18.2 – 24.2)
Epididim Apoptotik İndeks (%)	20.7 (15.0 – 22.1)	38.2 ^a (37.9 – 41.3)	22.0 ^b (19.5 – 22.0)	21.1 ^b (19.4 – 25.0)
Prostat Apoptotik İndeks (%)	8.60 (7.89 – 11.2)	29.5 ^a (25.0 – 37.9)	28.5 (27.6 – 31.0)	19.6 ^{b, c} (16.0 – 22.0)

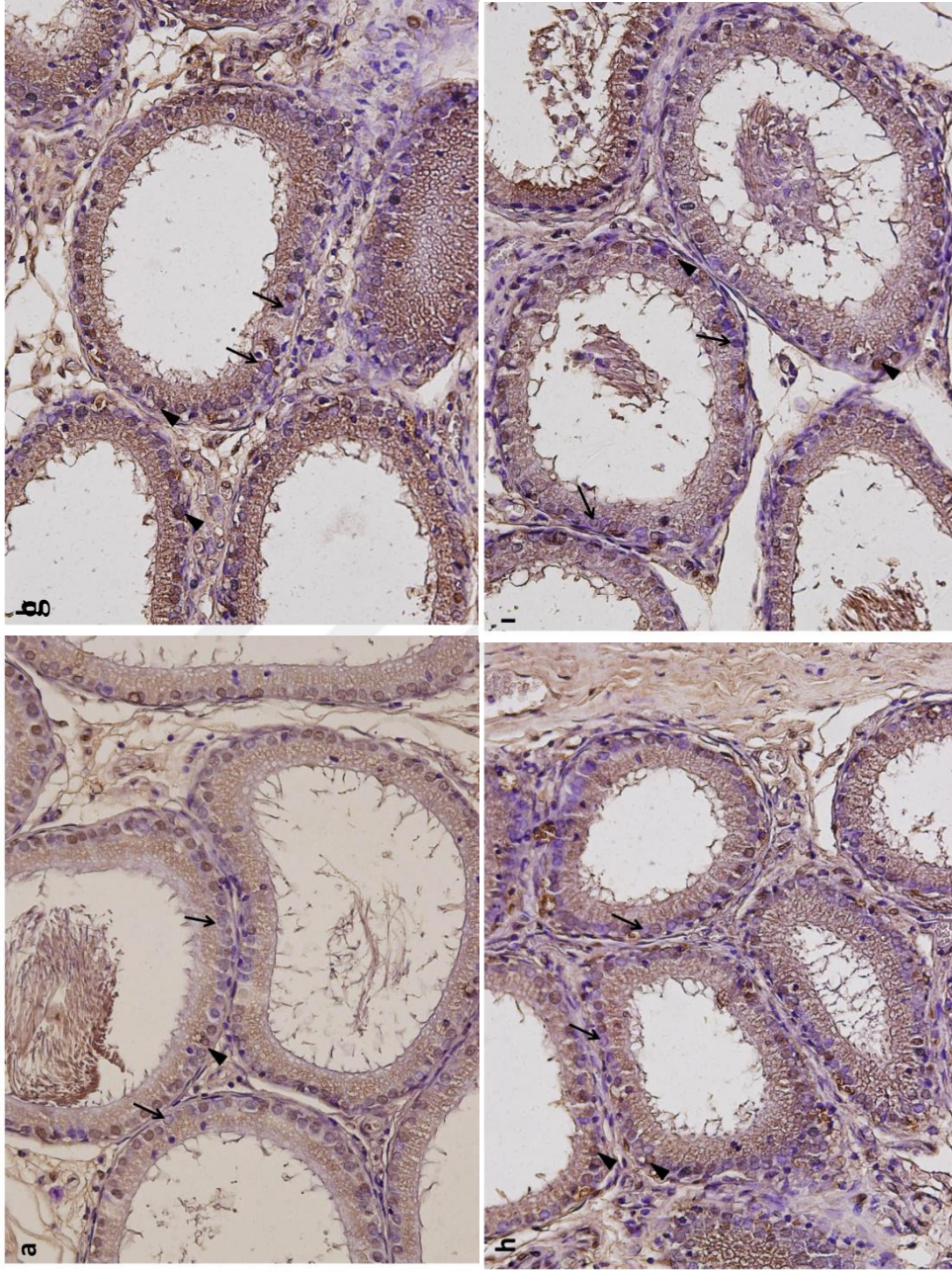
Değerler medyan ve çeyreklerarası aralık olarak verildi.

Gruplar arası karşılaştırmalar Kruskal Wallis Varyans analiziyle, ikili karşılaştırmalar Mann-Whitney U testi ile yapıldı.

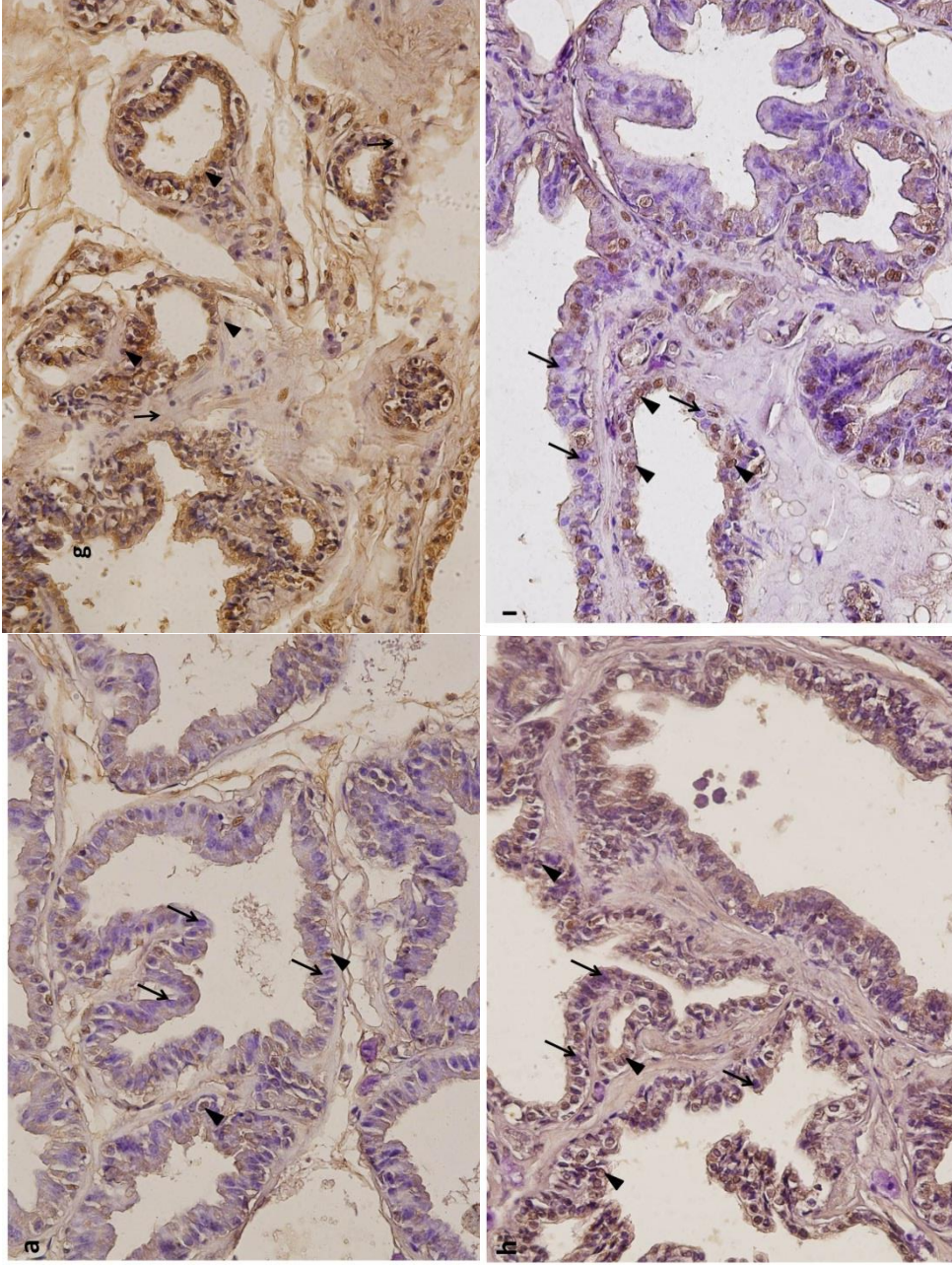
a: Genç Kontrol grubuna göre, b: Yaşlı Kontrol grubuna göre, c: Yaşlı Fındık grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklı bulundu $p < 0.05$



Resim 15. Testis dokusu seminifer tübül kesiti apoptotik değerlendirilmesi. **a:** Genç Kontrol grubu, **g:** Yaşlı Kontrol grubu, **h:** Fındık grubu, **i:** E vitamini grubu. Apoptotik spermatogenetik hücreler (▲), normal spermatogenetik hücreler (↑). (TUNEL X400)



Resim 16. Epididimis dokusu duktus epididimis kesiti apoptotik değerlendirilmesi. **a:** Genç Kontrol grubu, **g:** Yaşlı Kontrol grubu, **h:** Findık grubu, **i:** E vitamini grubu. Apoptotik hücreler (▲), normal hücreler (↑). (TUNEL X400)



Resim 17. Prostat dokusu kesiti apoptotik değerlendirilmesi. **a:** Genç Kontrol grubu, **g:** Yaşlı Kontrol grubu, **h:** Fındık grubu, **i:** E vitamini grubu. Apoptotik hücreler (▲), normal hücreler (↑). (TUNEL X400)

6.3.1.2. Semen Analizine Ait Bulgular

Genç kontrol ve yaşlı hayvanların semen analizine ait bulgular Tablo 22’de verilmiştir.

Yaşlı kontrol grubunun sperm canlılık değeri genç kontrol grubuna göre düşük olduğu izlendi. Ancak istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p= 0.397$). Fındık grubu sperm canlılık değerleri yaşlı kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu ($p= 0.022$). E vitamini grubunun sperm canlılık değerlerinde ise yaşlı kontrol grubuna göre artma gözlenmesine rağmen istatistiksel olarak anlamlılık yoktu ($p= 0.291$). Gruplar arasında sperm canlılık seviyeleri Şekil 21’de verilmiştir.

Yaşlı kontrol grubunun sperm hareketlilik değeri genç kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düşüktü ($p= 0.045$). Fındık ve E vitamini gruplarının sperm hareketliliğinde yaşlı kontrol grubuna göre yükseliş gözlemlendi. Bu yükselişin, fındık grubunda daha fazla olduğu görüldü. Ancak bu bulgular istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p= 0.994$). Gruplar arasında sperm hareketlilik seviyeleri Şekil 22’de verilmiştir.

Yaşlı kontrol grubunun sperm sayısı değeri genç kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düşük bulundu ($p= 0.006$). Fındık ve E vitamini gruplarının sperm sayısında ise yaşlı kontrol grubuna göre artış gözlenmesine rağmen istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p= 0.736$). Gruplar arasında sperm sayısı seviyeleri Şekil 23’de verilmiştir.

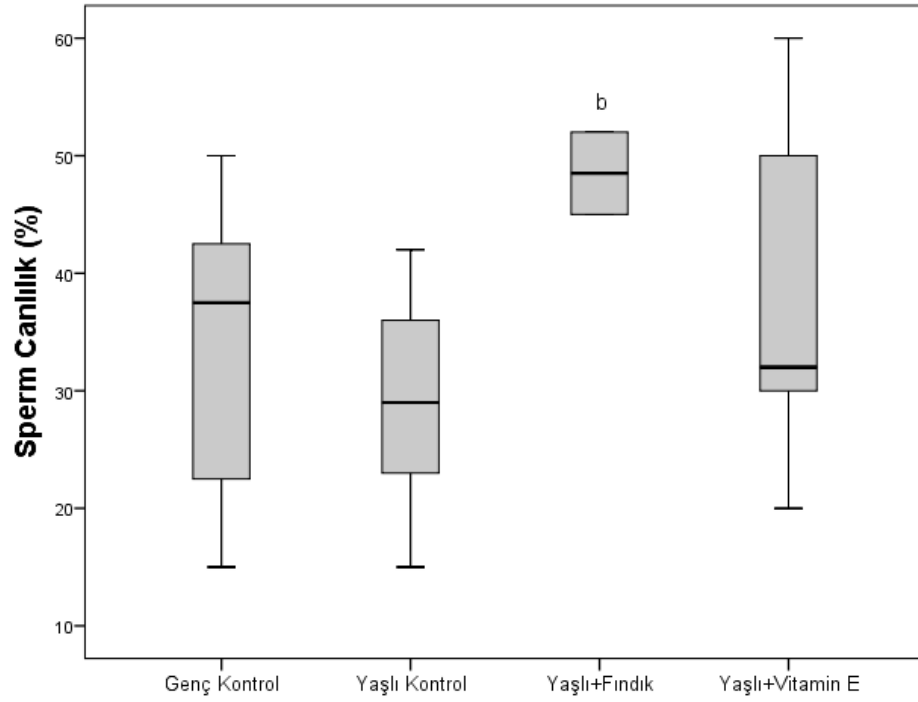
Tablo 22. Genç kontrol ve yaşlı hayvanların semen analizine ait bulgular ($n= 8$)

Parametreler	Genç Kontrol	Yaşlı Kontrol	Yaşlı Fındık	Yaşlı E Vitamini
Sperm Canlılık (%)	40.0 (25.0 – 45.0)	29.0 (18.0 – 39.0)	50.0 ^b (47.0 – 52.0)	32.0 (30.0 – 50.0)
Sperm Hareketlilik (%)	25.0 (14.3 – 41.7)	7.69 ^a (6.89 – 16.7)	10.3 (6.66 – 16,7)	9.67 (8.33 – 14.6)
Sperm Sayısı ($\times 10^6/\text{mL}$)	53.0 (35.0 – 60.0)	24.0 ^a (18.0 – 29.0)	28.5 (26.0 – 36.0)	26.0 (24.0 – 31.0)

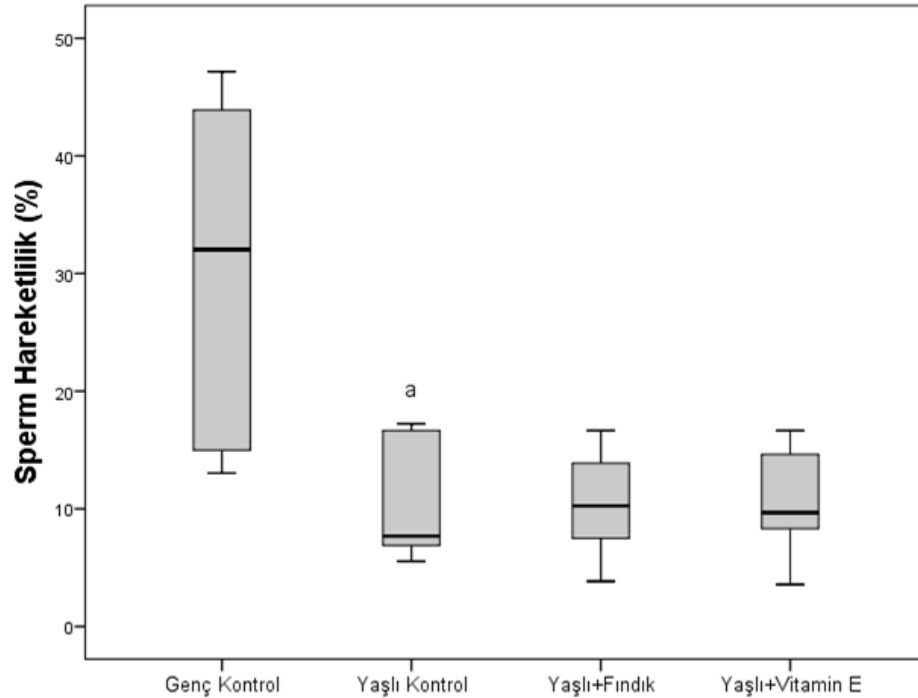
Değerler medyan ve çeyreklerarası aralık olarak verildi.

Gruplar arası karşılaştırmalar Kruskal Wallis Varyans analiziyle, ikili karşılaştırmalar Mann-Whitney U testi ile yapıldı.

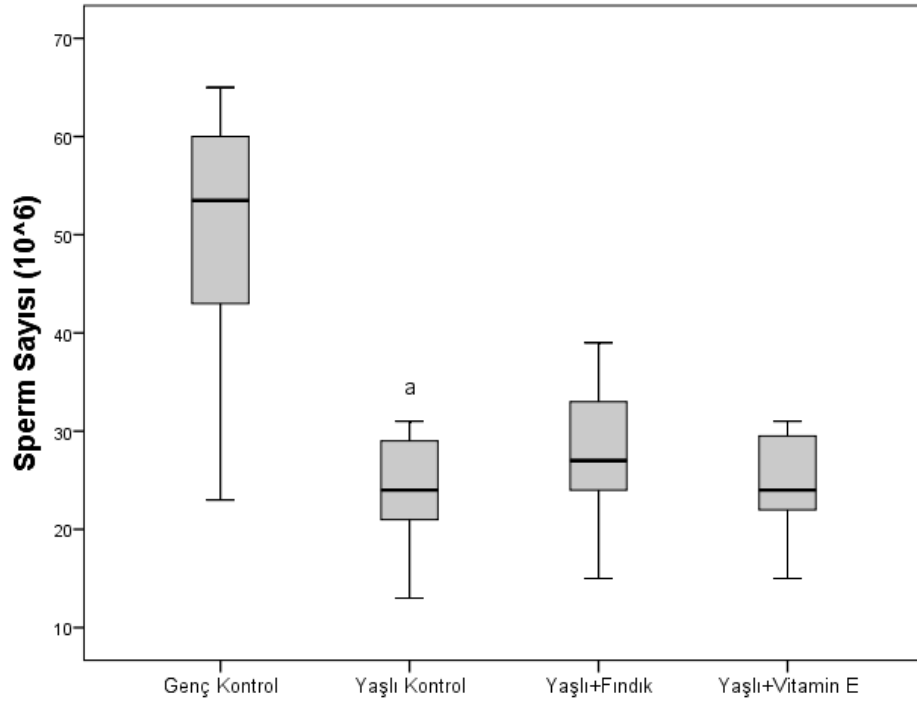
a: Genç Kontrol grubuna göre, b: Yaşlı Kontrol grubuna göre, c: Yaşlı Fındık grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklı bulundu $p < 0.05$



Şekil 21. Genç kontrol ve yaşlı hayvanlarda sperm canlılık seviyelerinin gruplara göre dağılımı. **b:** Yaşlı Kontrol grubuna göre $p=0.022$ düzeyinde anlamlıdır.



Şekil 22. Genç kontrol ve yaşlı hayvanlarda sperm hareketlilik seviyelerinin gruplara göre dağılımı. **a:** Genç Kontrol grubuna göre $p=0.045$ düzeyinde anlamlıdır.



Şekil 23. Genç kontrol ve yaşlı hayvanlarda sperm sayısı seviyelerinin gruplara göre dağılımı. **a:** Genç Kontrol grubuna göre $p=0.006$ düzeyinde anlamlıdır.

6.3.2. Yaşlı Hayvanların Biyokimyasal Verilerine Ait Bulgular

6.3.2.1. Sperm Örneklerine Ait Biyokimyasal Bulgular

Genç kontrol ve yaşlı hayvanların sperm örneklerine ait bulgular Tablo 23’de verilmiştir. Buna göre genç kontrol ve yaşlı kontrol gruplarının GPx değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p=0.620$). Fındık ve E vitamini gruplarının GPx değerleri yaşlı kontrol grubuna göre yüksek olduğu görüldü, ancak istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p=0.585$).

Genç kontrol grubunun GSH/GSSG değeri ile yaşlı kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p=0.054$). Fındık grubu GSH/GSSG değerinin yaşlı kontrol grubuna göre yüksek olduğu izlendi ancak istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p=0.083$). Buna karşılık E vitamini grubu GSH/GSSG değerlerinin yaşlı kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek olduğu görüldü ($p=0.011$). Gruplar arasında GSH/GSSG seviyeleri Şekil 24’de verilmiştir.

Genç kontrol grubunun MDA değeri yaşlı kontrol grubuna göre düşüktü, ancak istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p=0.456$). Fındık grubu MDA değerleri yaşlı kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düşük bulundu ($p=0.009$). E vitamini

grubunun MDA değerleri de yaşı kontrol grubuna göre düşüktü fakat istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p= 0.085$). Gruplar arasında MDA seviyeleri Şekil 25’de verilmiştir.

Genç kontrol grubunun E vitamini değeri yaşı kontrol grubuna göre yüksek izlendi. Ancak istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p= 0.106$). Fındık grubu E vitamini değerleri yaşı kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yüksekti ($p= 0.016$). Bununla beraber E vitamini grubunun bu değerleri fındık grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düşüktü ($p= 0.042$). Gruplar arasında E vitamini seviyeleri Şekil 26’da verilmiştir.

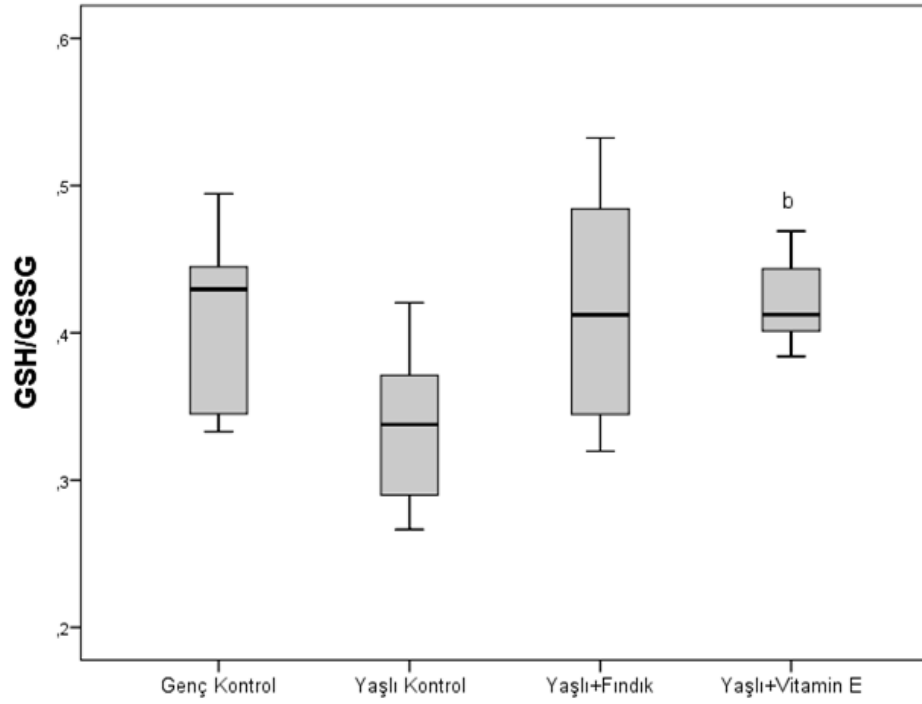
Tablo 23. Genç kontrol ve yaşı hayvanların sperm örneklerinde ölçülen GPx, GSH/GSSG, MDA ve E vitamini seviyeleri (n= 8)

Parametreler	Genç Kontrol	Yaşı Kontrol	Yaşı Fındık	Yaşı E Vitamini
GPx (nmol/dk/mg protein)	28.0 (23.1 – 51.8)	25.9 (25.7 – 37.8)	32.2 (28.1 – 41.9)	31.1 (20.9 – 47.5)
GSH/GSSG	0.43 (0.34 – 0.45)	0.34 (0.29 – 0.37)	0.41 (0.33 – 0.50)	0.41 ^b (0.40 – 0.47)
MDA (nmol/mg protein)	11.9 (8.43 – 12.8)	13.6 (10.3 – 14.1)	8.02 ^b (5.43 – 9.08)	8.94 (6.68 – 12.6)
E Vitamini (µg/mL)	0.27 (0.21 – 0.36)	0.59 (0.41 – 0.61)	2.24 ^b (0.83 – 2.31)	0.61 ^c (0.51 – 1.07)

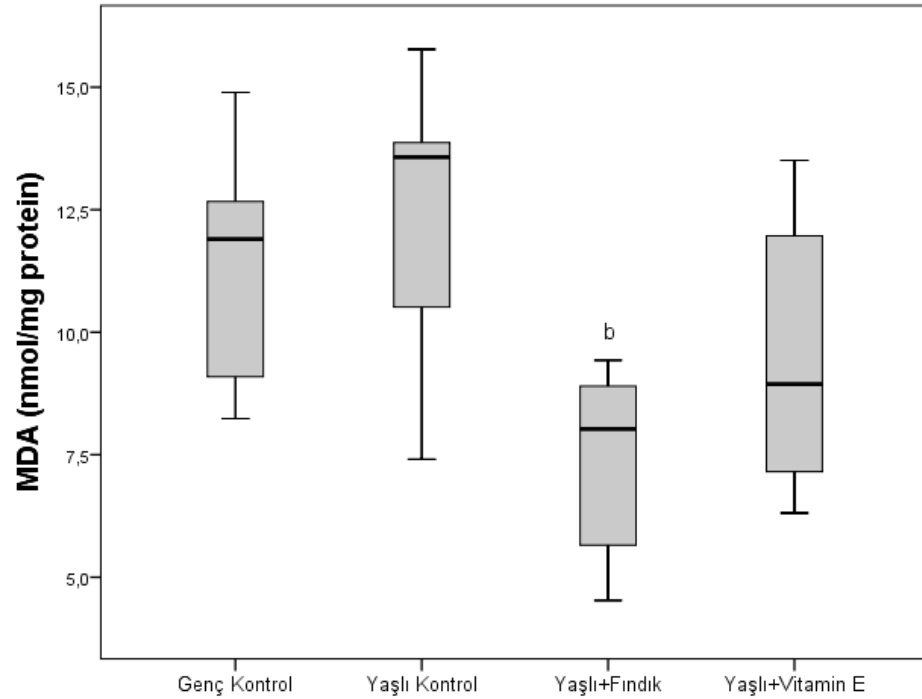
Değerler medyan ve çeyreklerarası aralık olarak verildi.

Gruplar arası karşılaştırmalar Kruskal Wallis Varyans analiziyle, ikili karşılaştırmalar Mann-Whitney U testi ile yapıldı.

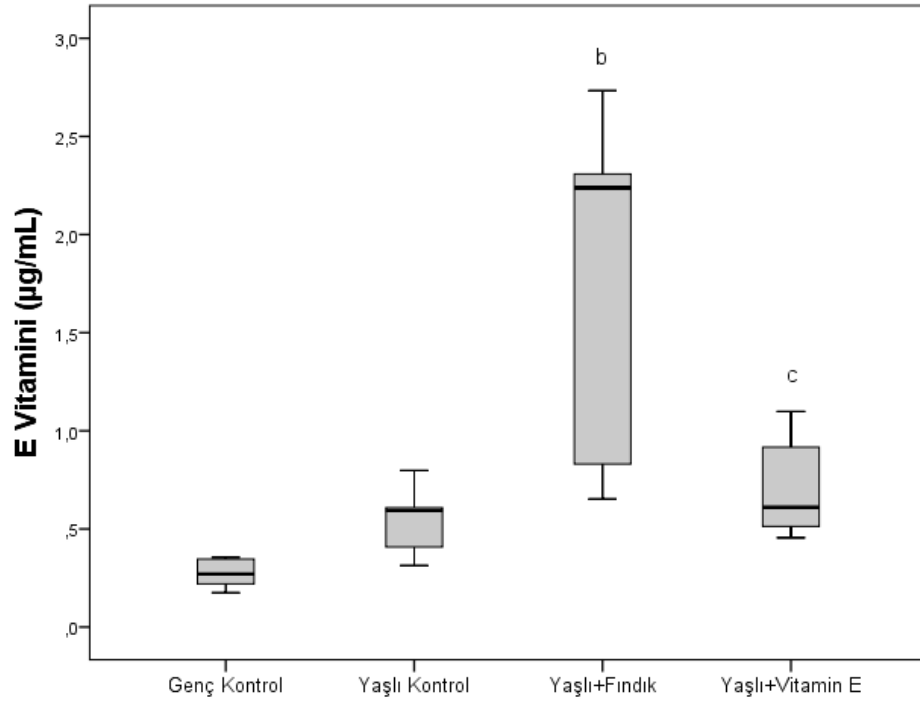
a: Genç Kontrol grubuna göre, b: Yaşı Kontrol grubuna göre, c: Yaşı Fındık grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklı bulundu $p < 0.05$



Şekil 24. Genç kontrol ve yaşlı hayvanlarda sperm GSH/GSSG seviyelerinin gruplara göre dağılımı. **b:** Yaşlı Kontrol grubuna göre $p=0.011$ düzeyinde anlamlıdır.



Şekil 25. Genç kontrol ve yaşlı hayvanlarda sperm MDA seviyelerinin gruplara göre dağılımı. **b:** Yaşlı Kontrol grubuna göre $p=0.009$ düzeyinde anlamlıdır.



Şekil 26. Genç kontrol ve yaşlı hayvanlarda sperm E vitamini seviyelerinin gruplara göre dağılımı. **b:** Yaşlı Kontrol grubuna göre $p=0.016$, **c:** Fındık grubuna göre $p=0.042$ düzeyinde anlamlıdır.

6.3.2.2 Plazma Örneklerine Ait Biyokimyasal Bulgular

Genç kontrol ve yaşlı hayvanların plazma örneklerine ait bulgular Tablo 24’te verilmiştir. GPx değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı.

GSH/GSSG oranında genç kontrol ve yaşlı kontrol arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı ($p=0.240$). Yaşlı hayvan gruplarının GSH/GSSG değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık izlenmedi ($p=0.842$).

Genç kontrol grubu MDA değeri yaşlı kontrol grubuna göre düşüktü. Ancak istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p=0.126$). Yaşlı kontrol grubu MDA değerleri hem fındık hem de E vitamini gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu (sırasıyla $p=0.007$, $p=0.003$). Gruplar arasında MDA seviyeleri Şekil 27’de verilmiştir.

Genç kontrol grubunun testosteron değeri yaşlı kontrol grubuna göre yüksek olduğu izlendi. Ancak istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p=0.429$). Hem fındık hem de E vitamini gruplarının testosteron değerleri yaşlı kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu (sırasıyla $p=0.019$, $p=0.004$). Gruplar arasında testosteron seviyeleri Şekil 28’de verilmiştir.

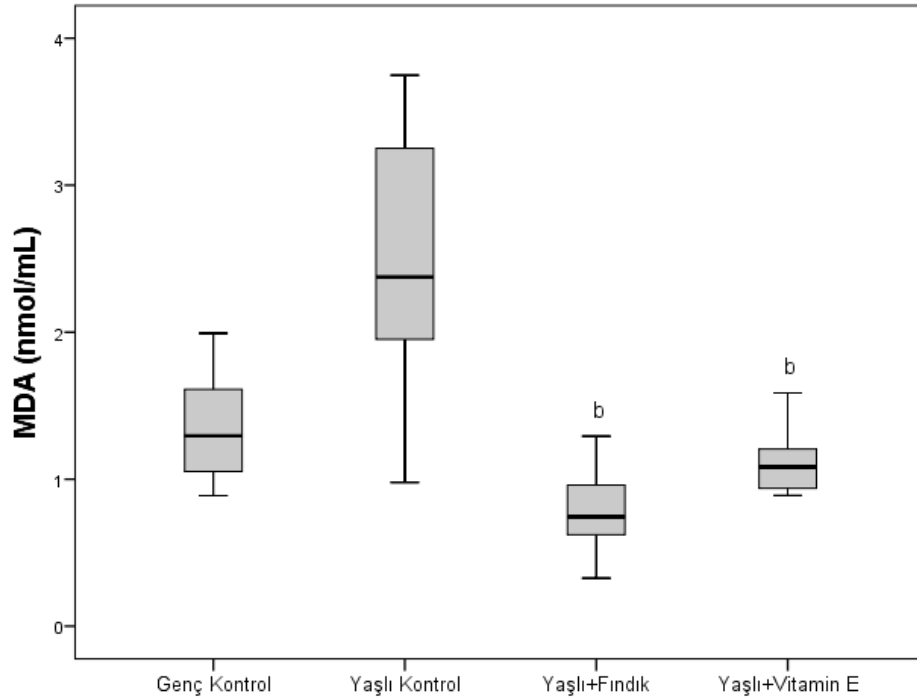
Tablo 24. Genç kontrol ve yaşlı hayvanların plazma örneklerinde ölçülen GPx, GSH/GSSG, MDA ve Testosteron seviyeleri (n= 8)

Parametreler	Genç Kontrol	Yaşlı Kontrol	Yaşlı Fındık	Yaşlı E Vitamini
GPx (nmol/dk/mL)	6.62 (3.57 – 10.2)	7.13 (6.37 – 10.2)	8.15 (3.57 – 10.7)	5.09 (2.29 – 10.4)
GSH/GSSG	0.27 (0.22 - 0.31)	0.18 (0.13 – 0.25)	0.15 (0.12 – 0.48)	0.30 (0.08 – 0.37)
MDA (nmol/mL)	1.29 (1.05 – 1.61)	2.38 (1.95 – 3.25)	0.74 ^b (0.58 – 1.14)	1.08 ^b (0.90 – 1.24)
Testosteron (ng/dL)	8.00 (1.78 - 9.07)	5.32 (4.66 – 5.40)	11.8 ^b (5.86 – 13.1)	8.70 ^b (6.73 – 10.7)

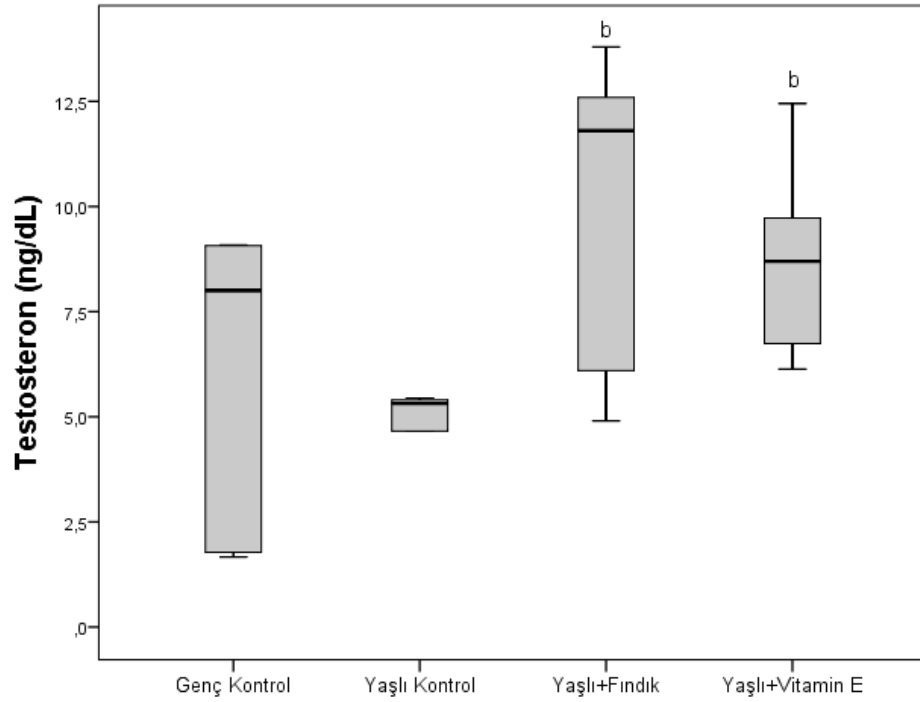
Değerler medyan ve çeyreklerarası aralık olarak verildi.

Gruplar arası karşılaştırmalar Kruskal Wallis Varyans analiziyle, ikili karşılaştırmalar Mann-Whitney U testi ile yapıldı.

a: Genç Kontrol grubuna göre, b: Yaşlı Kontrol grubuna göre, c: Yaşlı Fındık grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklı bulundu $p < 0.05$



Şekil 27. Genç kontrol ve yaşlı hayvanlarda plazma MDA seviyelerinin gruplara göre dağılımı. **b:** Yaşlı Kontrol grubuna göre sırasıyla $p= 0.007$, $p= 0.00$ düzeyinde anlamlıdır.



Şekil 28. Genç kontrol ve yaşlı hayvanlarda plazma testosteron seviyelerinin gruplara göre dağılımı. **b:** Yaşlı Kontrol grubuna göre sırasıyla $p= 0.019$, $p= 0.004$ düzeyinde anlamlıdır.

6.3.2.3. Diğer Doku Örneklerine Ait Biyokimyasal Bulgular

Yaşlı hayvanların diğer doku örneklerine ait bulgular Tablo 25’de verilmiştir. Testis dokusunda; genç kontrol grubunun GPx değeri yaşlı kontrol grubuna göre yüksekti. Ancak istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p= 0.462$). Yaşlı kontrol grubunun GPx değerleri fındık grubuna göre yüksek, E vitamini grubunun GPx değerleri ise hem yaşlı kontrol ve hem de fındık gruplarına göre yüksek gözlemlendi. Ancak bu bulgular istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p= 0.360$). Genç kontrol ile yaşlı kontrol grubu MDA değerleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı ($p= 0.519$). Hem fındık grubu hem de E vitamini grubu MDA değerleri ise yaşlı kontrol grubu ile karşılaştırıldığında düşüktü. Bu bulgular da istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p= 0.863$).

Epididimis dokusunda; yaşlı kontrol grubu GPx değeri genç kontrol grubuna göre yüksekti. Fakat istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p= 0.699$). Fındık grubunun GPx değerleri yaşlı kontrol grubuna göre yüksek gözlenirken, E vitamini grubunda hem yaşlı kontrol hem de fındık grubuna göre düşük olduğu gözlemlendi. Ancak bulgular istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p= 0.692$). genç kontrol ve yaşlı kontrol gruplarının MDA

değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p= 0.519$). Hem findık hem de E vitamini gruplarının MDA değerleri ise yaşlı kontrol grubuyla karşılaştırıldığında düşük bulundu. Ancak istatistiksel olarak anlamlılık yoktu ($p= 0.548$).

Prostat dokusunda; genç kontrol grubu ile yaşlı kontrol grubu GPx değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p= 0.699$). Fındık grubu GPx değerleri yaşlı kontrol grubuna göre düşük izlendi. Ancak E vitamini grubu GPx değerleri hem kontrol hem de findık grubuna göre yüksekti. Bulgular istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p= 0.314$). Yaşlı kontrol grubunun MDA değeri genç kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek izlendi ($p= 0.018$). E vitamini grubunun MDA değerleri ise hem yaşlı kontrol hem de findık grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düşük bulundu (sırasıyla $p= 0.003$, $p= 0.013$).

Tablo 25. Genç kontrol ve yaşlı hayvanların diğer doku örneklerinde ölçülen GPx ve MDA seviyeleri (n= 8)

Dokular	Parametreler	Genç Kontrol	Yaşlı Kontrol	Yaşlı Fındık	Yaşlı E Vitamini
Testis	GPx (nmol/dk/mg protein)	26.0 (21.5 – 30.0)	21.23 (12.70 – 29.25)	20.02 (16.60 – 28.69)	31.56 (18.45 – 36.21)
	MDA (nmol/mg protein)	9.17 (6.88 – 11.5)	6.91 (6.17 – 8.37)	6.68 (6.02 – 7.61)	6.84 (5.33 – 8.26)
Epididim	GPx (nmol/dk/mg protein)	32.6 (27.5 – 37.8)	44.93 (37.11 – 46.39)	61.40 (30.18 – 75.49)	37.70 (24.75 – 70.44)
	MDA (nmol/mg protein)	23.9 (21.9 – 29.8)	26.30 (24.49 – 27.99)	24.84 (23.43 – 26.19)	24.22 (21.25 – 25.91)
Prostat	GPx (nmol/dk/mg protein)	13.9 (10.4 – 20.9)	19.77 (15.82 – 26.5)1	16.39 (9.08 – 47.39)	48.50 (21.06 – 58.63)
	MDA (nmol/mg protein)	9.01 (5.01 – 9.82)	15.19 ^a (13.13 – 27.03)	15.70 (8.95 – 16.34)	7.68 ^{b, c} (6.24 – 9.20)

Değerler medyan ve çeyreklerarası aralık olarak verildi.

Gruplar arası karşılaştırmalar Kruskal Wallis Varyans analiziyle, ikili karşılaştırmalar Mann-Whitney U testi ile yapıldı.

a: Genç Kontrol grubuna göre, b: Yaşlı Kontrol grubuna göre, c: Yaşlı Fındık grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklı bulundu p < 0.05

7. TARTIŞMA ve SONUÇ

Türkiye; dünyada fındık üretiminin % 78'ini karşılayarak birinci sırada yer almaktadır. Fındık insan beslenmesi üzerine olumlu etkileri olan ve ülkemizde sıklıkla tüketilen ağaçta yetişen sert kabuklu meyvelerden biridir Fındık sahip olduğu protein, yağ, fitosterol, lif, antioksidan, vitamin ve mineral içeriğinden dolayı sağlıklı beslenme yönünden faydalı etkileri vardır. Fındığın kardiyovasküler hastalıklar, diyabet ve bunlara bağlı olarak gelişen olaylar üzerine olumlu etkilerini gösteren birçok epidemiyolojik ve vaka-kontrol çalışmaları mevcuttur (47, 48). Bu etki mekanizmaları göz önüne alındığında, fındığın başka birçok hastalık ve fizyolojik akışta da etki edebileceği düşünülmektedir. Türk toplumunda fındığın cinsel fonksiyonlar üzerine olumlu etki gösterdiği yaygın bir görüştür. Ancak ceviz ile yapılan birkaç çalışma dışında fındık ile ilgili bu düşüncenin arkasını doldurabilecek bilimsel her hangi bir çalışma henüz literatürde mevcut değildir. Bu çalışma; fındıkta bulunan yüksek E vitamini, polifenoller, düşük PUFA, yüksek MUFA ve zengin minerallerin erkek üreme sistemi üzerinde olumlu etki gösterebileceğini düşünerek planlandı. Bu amaçla üreme olgunluğuna ulaşmış erkek sıçanlar; 1) sağlıklı genç grup, 2) üreme sistemi DOX ile hasara uğratılan genç grup ve 3) fizyolojik hasarın değerlendirildiği yaşlı grup olmak üzere sınıflandırılıp fındık takviyesinin üreme sistemine ait dokulara muhtemel etkileri araştırıldı.

Kanser kemoterapisi için kullanılan birçok ilaç, testis de dahil olmak üzere birden çok organ sisteminde toksik yan etkiler göstermektedir. Spermatogenik hücreler yüksek mitotik aktiviteleri nedeniyle sitotoksik ajanların hedefidirler ve bu hücrelerde meydana gelen uzun süreli hasar fertilitate ve oligozoospermiye neden olmaktadır (153, 154). DOX, testis fonksiyonunu ve spermatogenezisi bozduğu bilinen sitotoksik etkiye sahip, yaygın kullanılan bir kemoterapi ilacıdır (155). DOX'in hayvan çalışmalarında doza bağımlı bir şekilde spermatogenezisi bozduğu bildirilmiştir (156). Düşük dozda DOX'in spermatogenezde anlamlı ancak kısa süreli bir azalmaya neden olduğu görülmüştür. Çalışmada DOX'in seçilmesinin nedeni deney süresi boyunca etkinliğini kaybetmeden üreme sisteminde hasar oluşturabilmesidir. Patil ve ark. (139) yaptığı çalışmada DOX'in 1., 7., 14., 21. ve 28. günlerde, 3 mg/kg intraperitoneal enjeksiyon yapılarak sıçanların üreme sisteminde hasar oluşturulmuştur. Bu hasarı hem biyokimyasal hem de

histopatolojik belirteçler ile göstermişlerdir. Bu sonuçlar başka çalışmalarla desteklenmektedir (157).

Birçok araştırmacı üreme sistemde oksidatif stresi önlemek için E vitamini de dahil olmak üzere birçok antioksidan kullanmıştır (158). E vitaminin güçlü bir lipofilik antioksidan olduğu ve memeli spermatogenezi için hayati önem taşıdığı kabul edilmiştir (159). Özellikle sertoli hücreleri ve paktien spermatositleri içinde çok miktarda ve daha az ölçüde de yuvarlak spermatidlerde bulunmaktadır (160). E vitamini eksikliği normal spermatogenezis ve testosteron üretimi ile bağdaşmayan oksidatif stres seviyelerine neden olur. Yapılan çalışmalar E vitaminin erkek fertilitesi üzerine oksidatif strese karşı koruyucu etki gösterebileceğini düşündürmektedir. Çalışmalardaki E vitaminin üreme sistemi üzerine olumlu etkileri E vitamininden zengin olan fındığın da benzer etkiler gösterebileceği konusunda bizi düşündürmüştür.

Çalışmamızda kullanılan hayvanlar her grupta 8 hayvan olacak şekilde rastgele seçilerek ayrıldı. Hayvanların birbirini rahatsız etmemesi ve yem, su, kilo kontrollerinin kolay olması için her kafeste 4 hayvan olacak şekilde barındırıldı. Hayvanların bu şekilde barındırılmasıyla homojen bir ortam oluşturuldu ve hayvanların birbirlerini etkilemeleri engellenerek standardizasyon sağlandı. Hayvanların yem ve su tüketimi günlük olarak, ağırlıkları ise DOX enjeksiyonu yapılan günlerde ölçüldü. Böylece fındık ve fındık zarı ile E vitamini alımını belirlenen oranlarda sağlamış olduk. Çünkü çalışmaya başlamadan önce ön denemelerde fındık zarı katkılı yem hazırlanırken, yemlerde hafif bir ekşime kokusu oluştu. Muhtemelen bu kokudan kaynaklı hayvanlar günlük yem alımını azaltmışlardı. Ayrıca yine denemelerde DOX enjeksiyonu ile kilo kaybı da gözlemlendi. Bu olumsuzluklar göz önüne alınarak yemler taze hazırlandı ve hayvanların kiloları ile günlük yem tüketimi hesaplanarak fındık ve fındık zarı yeme eklendi. Sonuçta hayvanların kilo kaybı ve yem tüketimindeki azalışa göre tüketmeleri gereken fındık miktarları hesaplandı ve bu değişime göre fındık ve fındık zarı miktarı artırılarak yeme eklendi. Böylece hayvanların tüketmeleri gereken katkılı yem miktarı kontrol altına alındı. Bununla beraber fındık ve fındık zarı katkılı yemler aynı anda etüve konulmadı. Böylece yem kokularının da birbirine karışması engellendi. Yine çalışmamızda E vitamininin suda çözünebilir formu (α -tokoferol asetat) içme suyuna eklenerek hayvanlara verildi. Bu sayede hayvanlara fazla stres durumuna maruz kalmadan E vitamini takviyesi yapıldı. Hayvanların günlük su tüketimine ve

ağırlıklarına göre içme suyuna eklenen E vitamini miktarı günlük 50 mg/kg olacak şekilde ayarlandı. DOX 1., 7., 14., 21. ve 28. günlerde, 3 mg/kg intraperitoneal enjeksiyon yapıldı. Bu kadar uzun süreli enjeksiyonda, enjeksiyon yapılan bölgede hasar meydana gelmemesi ve hayvanların irrite olmaması için ilaç farklı bölgelere (yine intraperitoneal olacak şekilde) uygulandı. Deney başlangıcında her grupta 8 hayvan olacak şekilde hayvanlar ayarlandı ve deney süresini tamamlayamayan hayvanlar olabileceği göz önüne alındı. Ancak deney tamamlandığında kayıp olmadan gruplarda 8 hayvan vardı. Deney sonunda hayvanlar dekapite edildi ve aynı gün semen analizleri yapıldı.

Çalışmamızda sıçanların yemine eklenecek fındık miktarı, insanların tüketmesi için önerilen 30 g/gün veya 0.4 g/kg miktarı göz önüne alınarak hesaplandı (136, 138). Sıçanların metalik hızı insanların 7 katı kadar hızlı çalışır (132). Hayvanların yemlerine hem metalik hızları hem de ağırlıkları göz önüne alınarak günlük 3 g/kg olacak şekilde fındık eklenmiştir. Sıçanlara günlük 18 cal/kg kadar ek kalori sağlanmasına rağmen başlangıç ve deney sonu ağırlıklar karşılaştırıldığında anlamlı bir farklılık bulunmadı. Fındık tüketimi ve ağırlık arasındaki ilişki ile ilgili çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Birkaç çalışmada fındık ve diğer ağaçta yetişen sert kabuklu meyvelerin tüketimi ile vücut kütle indeksi arasında ters ilişki olduğu görülmüştür (161-164, 136). Ancak fındık ve ağaçta yetişen sert kabuklu meyvelerin tüketiminin ağırlıkta hiçbir değişime veya kilo artışına neden olmadığını gösteren çalışmalar da mevcuttur (2, 165). Bunun muhtemel nedenlerinden biri fındığın sağladığı tokluk hissi ve enerji yönünden zengin bir besin olması olabilir. Ayrıca fındık içerdiği makro besin öğeleri sayesinde gastrointestinal hormonların salgılanmasını uyararak tokluk hissi oluşturabilir ve dinlenme anında metabolik hızı artırabilir. Bir diğer neden de içeriğinde bulunan lifler sayesinde gastrik boşalmayı geciktirebilir ve absorpsiyonu azaltarak kilo artışını engelleyebilir (166).

Çalışmada seçtiğimiz birinci grup sağlıklı sıçanlarda fındığın üreme sistemine bir etkisi olup olmadığının incelenmesi içindi. Sperm hareketlilik ve canlılığında fındığın kontrole göre olumlu etki göstermesine rağmen istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Bununla beraber sperm sayısında da önemli bir fark bulunamadı. Aynı zamanda Johnsen skorunda, testis, epididimis ve prostat apoptotik indeksinde olumlu etki gösterse de bunların sadece Johnsen skoru ($p= 0.033$) ve prostat apoptotik indeksi ($p= 0.006$) istatistiksel olarak anlamlı gözlemlendi. Eozin ve apoptotik boyama sonucunda

da fındık ve kontrol grupları arasında anlamlı fark görülmedi. Sperm ve plazma biyokimyasal parametreleri üzerinde de fındığın olumlu etkisi olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlılık bulunmadı.. Genç hayvanlarda normal fizyolojik işleyiş fındık grubu için de geçerli olduğu için bir hasar ya da tamir mekanizmasından bahsetmek yanlış olur. Üreme sistemi ile ilgili fonksiyonlar normal bir şekilde devam etmektedir.

Son yıllarda erkek infertilitesi üzerine yapılan çalışmalar oksidatif stres ve ROS üzerine yoğunlaşmaktadır. Üreme sisteminin normal fonksiyonunu yerine getirebilmesi için belli düzeyde ROS üretimine ihtiyacı vardır. Ancak ROS üretimi kritik seviyeyi aştığında üreme sisteminde oksidatif stres durumu oluşmakta ve bu da erkek fertilitasını etkilemektedir. Çalışmamızda üreme sisteminde ve spermatozoada DOX'le oksidatif hasar oluşturmayı ve fındığın bu hasar üzerine olumlu etki göstermesini beklemekteyiz. Birçok çalışma DOX uygulamasının sperm konsantrasyonunda ve motilitede anlamlı azalmaya ve anormal sperm oranlarında artmaya sebep olduğunu göstermiştir (155). Çalışmamızda da sperm hareketliliğinde, canlılığında ve sayısında DOX uygulaması ile anlamlı bir düşüş (sırasıyla $p= 0.028$, $p= 0.003$, $p= 0.025$) gözlemlendi. Bunun yanında morfolojik bulgular da semen analizi bulgularını destekler niteliktedir. Johnsen skorunda gözlenen anlamlı düşüş ($p= 0.002$), testis, epididimis ve prostat apoptotik indeks değerinde gözlenen anlamlı artış (sırasıyla $p= 0.002$, $p= 0.002$, $p= 0.002$) da yukarıdaki bulguları destekler niteliktedir. Aynı şekilde histopatolojik olarak eozin ve apoptotik boyamada DOX'un hücelere hasar verdiği açık bir şekilde görülmektedir. Sperm hücrelerinin zarları büyük miktarda PUFA içerir ve sitoplazmaları düşük hacme sahip olduğu için antioksidan enzimler düşük konsantrasyondadır. Bundan dolayı ROS'ların oluşturduğu hasarlara karşı hassastırlar (131). ROS reaksiyonları ile ortaya çıkan yan ürünler bir otokatalitik süreçle membran lipidlerin doymamış bağlarına saldırabilir. Bunun sonucunda lipid peroksidasyonu indüklenebilir. Membran lipidlerinin hasar görmesi ile membran bütünlüğü bozularak hücre içi ATP kaybına neden olur. Böylece sperm canlılığı azalır ve orta düzey morfolojik bozukluklar ortaya çıkar (168). Sonuçta çalışmamızda DOX uygulamasından sonra sperm kalitesinde gözlenen olumsuz değişiklikler; spermatozoa membranındaki çoklu doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonu, sperm motilitesi için gerekli flagellumun hasarlanması ve doğrudan spermatogenik hücre gelişiminin bozulması, olgunlaşmanın ve spermasyonun

bozulması, Sperm DNA'sının hasar görmesi yukarda anlatılan olumsuzlukların nedeni olabilir. Epididimis sperm olgunlaşması, canlılık, motilite ve spermatogenez için önemli rol oynamaktadır. DOX uygulanmış epididimiste bozulmuş bir epitel yapısı ve tübül atrofisi gelişmektedir. Yapılan çalışmalarda epitel hücrelerinde dejenerasyon ve çok sayıda mastositin interstisyel alana sızdığı görülmüştür. Aynı zamanda DOX, epididimis epitelinde anormalliği artırarak sperm hareketlilik ve canlılık oranlarını düşürmektedir (169). Çalışmamızda DOX uygulamasının testis, epididimis ve prostat dokularının GPx değerlerini düşürdüğü, MDA değerlerini ise yükselttiği görüldü, ancak istatistiksel olarak anlamlılık bulunmadı. Artmış lipid peroksidasyonu DOX uygulamasının toksik bulgularından biri kabul edilmektedir. Ateşşahin (170) ve Çeribaşı (155) DOX uygulamasının aşırı serbest radikal oluşumundan dolayı MDA seviyelerini yükselttiğini bildirmişlerdir. Salvemini ve ark. (171) oksidatif strese maruz kalan hücrelerde GSH sentezinin adaptasyon sonucu indüklenebileceğini bildirmişlerdir. Benzer şekilde Yılmaz ve ark (172) oksidatif stres koşulları altında GSH biyosentezinde artış olabileceğini söylemişlerdir. Bir diğer çalışmada da DOX uygulamasının kontrol grubuna göre GSH ve CAT aktivitelerini önemli derecede artırdığı bildirilmiştir (155). Bizim bulgularımızdaki bu değişiklik de bu adaptasyon süreci ile ilişkili olabilir. Benzer sonuçlar spermde ölçülen GPx ve MDA değerlerinde de gözlemlendi. DOX grubunun GPx değerleri kontrole göre yüksek, MDA değerleri ise kontrole göre düşük gözlemlendi. Muhtemelen bu durumu; DOX ile indüklenen oksidatif stres durumunda artan serbest radikalleri süpürmek için antioksidanların aşırı miktarda sentezlenmesi açıklayabilir. Plazmada ölçülen parametrelerde ise bu durum gözlenmemiştir. DOX uygulaması testiste germinal epitel hücrelerine ve Leydig hücrelerine zarar vermektedir. Bundan dolayı testosteron seviyelerinin düştüğünü belirten çalışmalar mevcuttur (153, 154). Çalışmamızda istatistiksel olarak anlamlı olmasa da DOX grubunda testosteron seviyesi düşük gözlemlendi. Çalışmamıza paralel DOX uygulaması yapan Patil ve ark. (139), 28 günlük deney sonunda DOX uygulamasının seminifer tübülde vakuolizasyona ve fibrinoid döküntüye, lümeni daralmış seminifer tübülde üreme hücresi kaybına, interstisyel alanda genişlemeye ve vakuolizasyona sebep olduğunu bulmuşlardır. Yapılan diğer bir çalışmada; 28 gün boyunca DOX uygulanmış sıçanlarda sperm sayısı ve hareketinde azalma bulunmuştur. Bununla beraber anormal sperm sayısında da artış görülmüştür (173). El-Sayyad ve ark. (174) yaptığı çalışma da bizim çalışmamıza

benzer şekilde, 30 gün boyunca (DOX) i.p 0.2 mg/kg enjeksiyonu yapılmış ve testis hasarı oluşturulmuştur. İnterstisyel alanda vakuolizasyona bağlı olarak ödem tespit edilmiştir. Dejenere olmuş Leydig hücrelerinin sayısında artış belirlenmiş ve çok sayıda ölü germ hücrelerine rastlanmıştır. Bununla birlikte sperm sayısında ve hareketinde azalma olduğunu gözlemlenmiştir. Yine çalışmamıza benzer bir başka çalışmada 3 mg/kg DOX i.p olarak 1., 7., 14., 21. ve 28. günlerde uygulanmış olup, seminifer tübüllerde dejenaratif değişiklikler, bazal membranda bozulma ve sperm sayısında belirgin bir azalmaya yol açarak testis dokusuna hasar verdiği ortaya konulmuştur. Seminifer tübül lümeninde ise olgun sperm gözlemlenmemiştir (157).

Bütün bu çalışmaların en dikkat çekici özelliği DOX uygulamasının üreme sistemine hasar vermesidir. Kendi çalışmamızda da seçtiğimiz hasarlayıcı ajan, bu ajanın uygulama zamanı ve dozu göz önüne alındığında başarılı olduğu görülmektedir.

DOX ile oluşturulmaya çalışılan hasar üzerine fındık ve fındık zarının etkisini gözlemlemeye çalıştık. Fındık sahip olduğu protein, yağ, fitosterol, lif, antioksidan, vitamin ve mineral içeriğinden dolayı sağlık üzerine bazı olumlu etkileri yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur. Bunun yanında E vitamini, ağaçta yetişen sert kabuklu meyveler arasında en fazla fındık ve badem de bulunur ve diğer bileşenleriyle birlikte bu ürüne önemli bir doğal antioksidan özellik kazandırır. Burada karşılaştırma yapabilmek için üreme sistemindeki hasar üzerine olumlu etkisi bilinen E vitamini takviyesi yapılmıştır. Aslında çok güçlü bir antioksidan olan E vitamini, hücre membran fosfolipidlerinde bulunan poliansatüre yağ asitlerini serbest radikal etkisinden koruyan ilk savunma hattını oluşturur. E vitamini zincir kırıcı bir antioksidan olarak bilinir çünkü fonksiyonu, lipid peroksit radikallerine elektron sunarak lipid peroksidasyon zincir reaksiyonlarını sonlandırmaktadır. Yapılan çalışmalar E vitaminin erkek fertilitesi üzerine oksidatif strese karşı koruyucu etki gösterebileceğini düşündürmektedir. Bir diğer etken fındığın yapısında bulunan antioksidan moleküller özellikle polifenoller olabilir. Bunlar antioksidatif ve antiapoptotik özellikler sergilerler ve metal iyonlarını bağlayarak demir ve bakır katalizli ROS oluşumunu önleyebilir (155).

Daha önce fındığın erkek reproduktif sistem üzerine etkisini inceleyen bir çalışma olmadığı için çalışmamız bu konuda özgündür. Bu sebeple fındık ve fındık zarına benzer çalışmalar göz önüne alındığında çalışmamız elde edilen bulgularla paralellik

göstermektedir. Attaman ve ark. (175) yaptığı çalışmada, insanlara yağ asitleri ve omega-3 PUFA vermişlerdir. Sonra sperm örneklerini toplayıp, bunlarda yağ asidi kompozisyonu ve sperm analizi yapmışlardır. Sonuçlara bakıldığında omega-3 PUFA verilen grupta sperm morfolojisi ve sperm sayısında olumlu etki gözlenmiştir.

Yine başka bir çalışmada; insanlara 12 hafta boyunca günlük 75 g ceviz diyeti verilmiştir. Deney sonunda sperm örnekleri alınarak rutin semen analizi yapılmıştır. Ceviz diyeti yapılan grupta sperm canlılık, motilite ve morfolojide iyileşme gözlenmiştir (176). Yapılan diğer bir çalışmada ise sıçanlara hasar oluşturulmadan 16 hafta boyunca fındık yağı ve kanola yağı verilmiş ve hayvanlarda testis Johnsen skoru bakılmıştır. Ancak gruplar arasında bir farklılık bulunamamıştır (177).

Kendi çalışmamızın verilerinde de sperm hareketliliğinde ve sayısında DOX ile hasar verilmesinin karşılığında fındık takviyesi olumlu etki göstermiştir. Bu olumlu etki muhtemelen fındığın içerdiği MUFA ve E vitamininin sperm hücrelerinin membranlarını serbest radikallerin etkisine karşı korumaları olabilir. Zira yapılan çalışmalar omega-3 yağ asitleri takviyesinin sperm morfolojisini olumlu etkilediğini göstermiştir (178, 179). Ayrıca fındığın enerji içeriğinin yüksek olması da sperm hareketliliğini etkilemiş olabilir.

Literatürde ağaçta yetişen sert kabuklu meyvelerin antioksidan enzimler üzerine etkileri ile ilgili çalışmalar bulunmakla beraber, çalışmalar kısıtlıdır. Cominetti ve ark. (180) yaptığı çalışmada, obez kadınlara brezilya cevizi yedirilmiş ve sonra eritrosit selenyum seviyesine ve glutatyon peroksidaz aktivitesine bakılmıştır. 8 haftalık sert kabuklu meyve diyetinin sonucunda eritrosit selenyum düzeyinde ve glutatyon peroksidaz aktivitesinde anlamlı artış gözlemlenmiştir. Bir başka çalışmada, diyaliz hastalarına brezilya cevizi yedirilmiş ve hem plazmada hem de eritrositlerde selenyum düzeyleriyle glutatyon peroksidaz aktivitesine bakılmıştır (181). Bu çalışmalara göre; fındık içerdiği selenyum ve vitamin E sayesinde glutatyon peroksidaz aktivitesini ve selenyum konsantrasyonunu artırmaktadır. Ancak biz çalışmamızda GPx değerlerinde anlamlı bir değişiklik bulamadık.

MDA, serbest radikallerin etkisiyle membran lipidlerinin peroksidasyonu sonucunda oluşan son üründür. Bunun sonucunda membran yapı ve bütünlüğü bozulur. Fındık yapısında bulunan antioksidan moleküller ve E vitamini sayesinde

doymamış yağ asitlerinin oksidasyonuna sebep olan zincir reaksiyonlarının sonlanmasını sağlayabilir. Çalışmamızda kontrol grubuna göre DOX grubunda fark bulamamıza rağmen, fındık, fındık zarı ve E vitamini takviyesinin MDA değerlerini anlamlı ölçüde iyileştirdiği görüldü. Ağaçta yetişen sert kabuklu meyvelerin plazma MDA değerlerini düşürdüğüne ilişkin pek çok çalışma mevcuttur (52, 182-184).

Hipotalamus-hipofiz-testis eksen, çeşitli pozitif ve negatif geri bildirimler ile kontrol edilmektedir. Bunlardan biri de nitrik oksit (NO). Fındık içeriğinde bulunan arginin amino asidi, NO'ye dönüştürülebilir. Oluşan NO hipofiz bezindeki nöronlardan nitrik oksit sentaz enzimini aktive ederek gonadotropin salgılatıcı hormonun salgılanmasını artırır. Aynı şekilde NO guanilat siklaz enzimini aktive ederek gonadotropin salgılatıcı hormonun salgılanmasını artırır. Artmış gonadotropin salgılatıcı hormon testosteron seviyesini de artırır. Testosteron hormonun erektile fonksiyon ve libido üzerine etkisini inceleyen birçok çalışma mevcuttur (185-187). Katı' ve ark.'nın (177) yaptığı çalışmada kanola yağı ile beslenen sıçanların testosteron seviyeleri anlamlı yüksek bulunmasına rağmen, fındık yağı ile beslenen hayvanlarda testosteron seviyesinin yüksekliği anlamlı bulunmadı. Çalışmamızda fındık takviyesinin DOX grubuna göre testosteron seviyesini artırdığı görülmüştür. Bostani ve ark. (188) yaptığı çalışma da bizi destekler niteliktedir. Sıçanlar puberte öncesi ve sonrası olmak üzere gruplara ayrılmış ve 30 gün boyunca ceviz yağı verilmiştir. Deney sonunda hayvanların testosteron seviyeleri ölçülmüştür. Sonuç olarak hem puberte öncesi hem puberte sonrası ceviz yağı verilen grupta kontrole göre artmış testosteron seviyeleri bulunmuştur. Bunun nedenini yukarıda belirtildiği gibi gonadotropin salgılatıcı hormon üzerinden testosteron hormonunu düzenleyerek olduğu düşünülebilir.

Hekimoğlu ve ark. (189) sıçanlarda testiküler iskemi reperfüzyon uyguladıktan sonra reperfüzyonun 24. saatinde katalaz, glutatyon ve glutatyon peroksidaz aktivitelerinde artış olduğunu ve bu artışın likopen uygulanması sonrası geri döndüğünü ve MDA düzeylerinin etkilenmediğini bulmuşlardır.

Zhou ve ark. (190) yaptıkları çalışmada; erişkin erkek sıçanlarda testis hasarı formaldehit ile oluşturulmuş ve E vitamini bu hasar üzerine etkisi araştırılmıştır. Sıçanlar 2 hafta süresince formaldehite (10 mg/m^3) maruz bırakılmış ve oral yolla (30 mg/kg) E vitamini verilmiştir. Formaldehit uygulanan grupta testis ağırlığı düşüşü,

seminifer tübül atrifikasyonu, sperm hücre sayısı hareketliliğinde, spermatogenetik hücre sayısında azalma ve seminfer tübül epitelinde lümene dökülmüş hücreler gözlenmiştir. Ayrıca interstisyel alanda  dem görülmüş ve tübül lümeni sperm hücrelerinden yoksun olduğu dikkati çekmiştir. Formaldehit+E vitamini uygulanan grupta bu hasarlar oldukça düşük seviyeye ulaşmıştır. Testis ağırlığı d      önemli derecede engellenmiştir, seminfer tübülde oluşan hasarlar kısmen giderilmiştir. Uygulanan E vitamini ile sperm kalitesi ve miktarındaki d       nlenmi tir.

Al-Attar ve ark. (191) yaptıkları çalışmada erkek sıçanlarda ağır metallerle oluşturulan böbrek ve testis hasarı  zerine E vitamininin antioksidan etkisini incelemişlerdir. Deney hayvanlarının içme sularına değişik miktarlarda ağır metaller (30 ppm Pb, 10 ppm Hg, 30 ppm Cd, 30 ppm Cu) karı tırılmı  ve i.p olarak E vitamini (50 IU/kg) 7 hafta boyunca 5 kere uygulamışlardır. Çalışma sonucunda ağır metaller seminfer tübüllerde önemli derecede hasara neden olduğunu bulmuşlardır. Sperm hücreleri yönünden yoksun olduğunu ve tübüller spermatogenez oluşum sürecini kaybettiğini gözlemlemişlerdir. Uygulanan E vitamini ile testisteki bu histopatolojik bulgular azalttığını ve normale yakın görünüm elde edildiğini bildirmişlerdir.

E vitaminiyle yapılan çalışmalar gösteriyor ki; üreme sisteminde özellikle testis ve sperm üzerinde oluşturulan hasarı düzeltmede olumlu etki göstermiştir. Kendi  alı mamızda da gördüğümüz gibi E vitamini DOX ile oluşturulan hasarı d zeltmi tir. Dolayısıyla bizim için fındık ve fındık zarının etkinliğini kar ıla tırabileceğimiz bir standart görevi görmektedir.

Çalışmamızın bir diğer kısmı fizyolojik olarak oluşan oksidatif stresin üreme sistemi üzerine etkisi ve fındığın bu durumu düzeltip d zeltmeyeceğidir. Ya lı hayvanları öncelikle genç hayvanların kontrol grubuyla kar ıla tırdık. Sperm canlılık değerleri genç kontrole göre ya lı kontrolde düşüktü ancak istatistiksel olarak anlamlı değildi, bununla beraber sperm hareketlilik ve sayısı istatistiksel olarak anlamlı düşüktü. Yapılan  alı malar ya lanmayla beraber sperm hareketliliğinin azaldığını ve anormal şekilli sperm oranlarının arttığını göstermektedir (21). Sıçanlarda yapılan çalışmalarda da testiste sperm konsantrasyonunda d     , sperm motilitesinde azalma, kauda epididimiste sitoplazmik damlacık sayısında artış olduğu bildirilmiştir (192). Çalışmamızda elde ettiğimiz bulguların daha önceki yayınlarla uyumlu olduğu

görülmektedir. Aynı zamanda bu bulgulara paralel olarak yaşı kontrol grubunda Johnsen skoru anlamlı düşük, testis epididimis, prostat apoptotik indeks değerleri anlamlı yüksekti. Her iki kontrol grubunun eozin ve apoptotik boyama resimleri bu verileri destekler nitelikteydi. Ancak yaşı kontrol grubunun sperm GPx değeri düşük ve MDA değeri yüksek olduğu görüldü. Genç kontrol ve DOX grubunun karşılaştırılması göz önüne alındığında burada ters bir durum ortaya çıkmaktadır. Bunun muhtemel nedeni yaşlılığın getirdiği yıkımın yapımdan daha hızlı olmasıyla ilgilidir. Antioksidan enzimlerin sentez hızı düşmüş ve yıkım hızları artmış olduğu için olabilir. Buna karşılık E vitamini yaşı kontrolde daha yüksekti. Muhtemelen yaşı hayvanların yağ dokusu genç hayvanlarınkine göre daha fazla olduğu için daha fazla depolanmış olabilir. Diğer bir neden ise yaşlanma ile ejakulasyon hacmi azalırken içeriğinin yoğunlaşması olabilir (193). Testis, epididimis ve prostat dokularında GPx değerleri beklendiği gibi yaşı kontrol grubunda düşük izlendi, ancak istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Buna karşılık testis MDA değeri yaşı kontrol grubunda daha düşük bulundu. İlginç şekilde yaşı kontrol grubunun epididimis ve prostat dokularının MDA değerleri genç kontrol grubuna göre yüksekti. Ancak bulgular istatistiksel olarak anlamlı değildi. Zubkova ve Robaire (194) cauda epididimidis ve seminal veziküllerde GSH düzeylerinin yaşla birlikte azaldığını göstermişlerdir. Aybek ve ark. (195) testis GSH ve SOD düzeylerinin yaşla istatistiksel olarak anlamlı şekilde azalmadığını bulmuşlardır. Bu sonuçlara ve kendi çalışmamızın verilerine göre, yaşlanma sırasındaki sperm kalitesindeki bozulma, testis yerine kauda epididimis ve seminal vesiküllerde artmış oksidatif stresin bir sonucu olabilir.

Plazmada ölçülen parametrelere bakıldığında yaşı kontrol grubunun GPx değeri genç kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düşüktü ($p=0.005$). MDA değeri ise genç kontrol grubuna göre yüksek izlendi, ancak anlamlılık yoktu. Bununla beraber testosteron seviyesi de genç kontrol grubuna göre düşüktü. Yaşı sıçanlarda üreme işlevlerini etkileyen diğer bir önemli faktör plazma testosteron seviyesidir. Yani, yaşı erkeklerde lipofuskin pigmentlerinin birikimi ya da Leydig hücrelerinde yaşlanma testiste histomorfolojik değişiklikler meydana getirir. Bu birikim Leydig hücrelerinin de miktarının azalmasına ve bu nedenle testosteron üretiminde de önemli bir azalmaya sebep olur (193). Araştırmacılardan bazıları 50 yaş üstü erkeklerde plazma testosteron düzeylerinde azalma olduğunu göstermişlerdir (196). Harman ve ark. (197), yaşı

sağlıklı erkeklerde plazma testosteron düzeylerini belirleyen bir faktör olmadığını bazı başka faktörlerin de yaşlı cinsel steroid düzeylerinin düzenlenmesinde rol oynayabileceğini bildirmiştir.

Yaşlanma, serbest radikallerin zararlı etkilerinden dolayısıyla membran bileşenlerinin değiştirmesi ve fonksiyonel proteinlerin inaktive olması olarak düşünülebilir. Bu değişiklikler aşırı olduğunda hücre ölümüne sebep olabilir. Salomon ve ark. (198) yaptığı çalışmada yaşa bağlı olarak testis GPx düzeylerinin azaldığını bulmuşlardır. Yine aynı çalışmada testis MDA düzeylerini yaşlılarda daha yüksek bulmuşlardır. Bu sonuçlar bizim bulgularımızla uyumludur. Ancak bulgularımız istatistiksel olarak anlamlı değildir. Çalışmamızda epididim dokusuna ait bulgularda, GPx ve MDA değerini genç kontrole göre yüksek gözledik. Ancak istatistiksel olarak anlamlı bulamadık. Bunun muhtemel nedeni yaşlı erkeklerde epididimisin daha ağır olduğu ve yaşam boyunca fonksiyon göstermesi olabilir (199, 200). Sperm motilitesi için prostat salgısının gerekli olduğu bilinmektedir. Ayrıca sperm motilitesinin, sıçanlarda ve erkeklerde doğurganlığın en önemli belirleyicilerinden biri olduğu düşünülmektedir (201). Yaşlanmayla beraber prostat bezinde büyüme meydana gelmektedir. Bulgularımızda prostat GPx ve MDA değerlerinin genç kontrol grubuna göre yüksek çıkmasının muhtemel nedeni bu olabilir. Ancak bulgularımız istatistiksel olarak anlamlı değildi. Çalışmamızda testis ve epididimis dokusunda fındık takviyesinin MDA değerlerini azalttığı görülürken prostat dokusunda artırdığı bulundu. Prostat dokusundaki bu artış beklenmeyen bir sonuçtur ve nedenini açıklayamamaktayız. Epididimis GPx değeri fındık takviyesi ile artarken, testis ve prostat dokularında GPx değeri azalmaktadır. Epididimisin yaşlılıkta bile aktif çalışmasına bağlı olarak fındık takviyesi olumlu etki göstermiş olabilir. Ancak testis ve prostat dokusundaki azalışı bir nedene bağlayamamaktayız.

8. SONUÇ ve ÖNERİLER

Çalışmamızda;

1. DOX'in erkek sıçanların üreme sisteminde hasara neden olduğu ve ilgili organlarda oksidatif stresin arttığı gösterildi.
2. Fındık takviyesinin özellikle histopatolojik ve immünohistokimyasal sonuçlarda olumlu etki gösterdiği belirlendi.
3. Fındık takviyesinin DOX ile hasar oluşturulan genç sıçanların sperm sayı, hareket ve canlılık değerlerini yaklaşık % 50 oranında arttırdığı tespit edildi.
4. Fındık takviyesinin DOX ile hasar oluşturulan genç sıçanların sperm E vitamini değerini % 47 oranında arttırdığı, sperm ve plazma MDA değerlerini yaklaşık % 40 oranında azalttığı görüldü.
5. Fındık takviyesinin DOX ile hasar oluşturulan genç sıçanların plazma testosteron değerini yaklaşık 3 kat arttırdığı bulundu.
6. Yaşlı kontrol grubunun genç kontrol grubu ile karşılaştırılması sonucunda yaşlılığın üreme sisteminde hasar meydana getirdiği görüldü.
7. Fındık takviyesinin yaşlılık ile oluşan hasarda olumlu etkiler gösterdiği belirlendi. Ancak bu etkinin sperm sayı ve hareketlilik bakımından genç hayvanlardaki kadar belirgin olmadığı görüldü.

Çalışmamızdan elde edilen sonuçlar doğrultusunda;

1. Fındığın yararlı etkilerinin içeriğindeki hangi biyoaktif moleküllerden kaynaklandığını ortaya koyabilmek için daha ileri çalışmalar yapılabilir.
2. Oksidan-antioksidan durumu daha iyi yansıtmaları açısından, bu durumu yansıtan moleküllerin gen düzeyinde değişimlerin incelenmesi önerilebilir.
3. Çalışmanın insan sağlığını daha iyi yansıtabilmesi için insan deneyleri önerilebilir.
4. Çalışmamızda numune yetersizliğinden dolayı sperm yağ asidi kompozisyonunu belirlenemedi. Fındığın içerdiği PUFA ve MUFA'nın sperm membranlarının yağ asidi içeriğini nasıl değiştirdiğini ölçmemek çalışmamızın bir eksikliğidir.

9. KAYNAKLAR

1. Dreher ML, Maher CV, Kearney P (1996). The traditional and emerging role of nuts in healthful diets. *Nutr Rev* 54: 241–5.
2. Garg ML, Blake RJ, Wills RBH, Clayton EH (2007). Macadamia nut consumption modulates favorably risk factors for coronary artery disease in hypercholesterolemic subjects. *Lipids* 42: 583–7.
3. Örem A, Yücesan FB, Örem C, Akcan B, Kural VB, Alaşalvar C, Shahidi F (2013). Hazelnut enriched diet improves cardiovascular risk biomarkers beyond a lipid-lowering effect in hypercholesterolemic subjects. *J Clin Lipidol* 7 (2):123-31.
4. Hargrove RL, Etherton TD, Pearson A, Harrison EH, Kris-Etherton PM (2001). Low fat and high monounsaturated fat diets decrease human low density lipoprotein oxidative susceptibility in vitro. *J Nutr* 131: 1758–63.
5. Blomhoff R, Carlsen MH, Andersen LF, Jacobs DR (2006). Health benefits of nuts: potential role of antioxidants. *Br J Nutr* 96: 52–60.
6. Simon HB (1994). Patient-directed, non-prescription approaches to cardiovascular disease. *Arch Intern Med* 154: 2283-2296.
7. Eritsland I, Arnesen H, Seljefolt I (1995). Longterm metabolic effects of n-3 polyunsaturated fatty acids in patients with coronary artery disease. *Am J Clin Nutr* 61 (6): 831-836.
8. Ekici E, Maral H, Ateş N (2005). Linoleik asidin geçici orta serebral arter iskemisinde infarkt alanı, nörolojik skorum ve oksidan-antioksidan sistemler üzerine etkileri. *Türk J Biochem* 30 (1): 37-38.
9. Food and Drug Administration (FDA) (2003). Qualified health claims: Letter of enforcement discretion nuts and coronary heart disease. Docket No 02P-0505, Food and Drug Administration, Washington, DC.
10. Pehlivanoglu S (2006). Kalp ve damar hastalıklarından korunmada fındığın etkisi. 3. Milli Fındık Şurası Tebliğler Kitabı, Uğur Eğitim Hizmetleri ve Yayımcılık, 584-586.
11. Shahidi F, Alaşalvar C (2004). Fındık ve fındık yan ürünlerinde fitokimyasal maddeler ve biyoaktif bileşikler. Fındık Tanıtım Grubu.

12. Colaric M, Veberic R, Solar A, Hudina M, Stampar F (2005). Phenolic acids, syringaldehyde, and juglone in fruits of different cultivars of *Juglans regia* L. *J Agric Food Chem* 53: 6390–6.
13. Monagas M, Garrido I, Lebrón-Aguilar R, Bartolome B, Gomez-Cordoves C (2007). Almond (*Prunus dulcis* (Mill.) D.A.Webb) skins as a potential source of bioactive polyphenolics. *J Agric Food Chem* 55: 8498–507.
14. Contini M, Baccelloni S, Massantini R, Anelli G (2008). Extraction of natural antioxidants from hazelnut (*Corylus avellana* L.) shell and skin wastes by long maceration at room temperature. *Food Chem* 110: 659–69.
15. Arcan İ, Yemenicioğlu A (2009). Antioxidant activity and phenolic content of fresh and dry nuts with or without the seed coat. *J. Food Compos. Anal.* 22: 184-188.
16. Fukagawa NK (1999). Aging: is oxidative stress a marker or is it causal? *Proc Soc Exp Biol Med* 222 (3): 293-298.
17. Hanukoğlu I (2006). Antioxidant protective mechanisms against reactive oxygen species (ROS) generated by mitochondrial P450 systems in steroidogenic cells. *Drug Metab Rev* 38 (1–2):171–196.
18. Agarwal A, Saleh RA, Bedaiwy MA (2003). Role of reactive oxygen species in the pathophysiology of human reproduction. *Fertility and Sterility* 79: 829–843.
19. Nakamura BN, Lawson G, Chan JY, Banuelos J, Cortés MM, Hoang YD, Ortiz L, Rau BA, Luderer U (2010). Knockout of the transcription factor Nrf2 disrupts spermatogenesis in an age-dependent manner. *Free Radical Biol Med* 49: 1368-1379.
20. Chambers KC, Thornton JE, Roselli CE (1991). Age-related deficits in brain androgen binding and metabolism, testosterone, and sexual behavior of male rats. *Neurobiol Aging* 12: 123–30.
21. Bujan L, Mieusset R, Mondinat C, Mansat A, Pontonnier F (1988). Sperm morphology in fertile men and its age-related variation. *Andrologia* 20: 121–8.
22. Evans MD, Cooke MS (2004). Factors contributing to the outcome of oxidative damage to nucleic acids. *Bio Essays* 26: 533-542.
23. U.S. Department of Agriculture (USDA) (2007). USDA National Nutrition Database for Standard Reference, Release 20, National Technical Information Service, USDA, Springfield, VA.

24. Afshin A, Micha R, Khatibzadeh S, Mozaffarian D (2014). Consumption of nuts and legumes and risk of incident ischemic heart disease, stroke, and diabetes: A systematic review and meta-analysis. *American Journal of Clinical Nutrition* 100 (1): 278–288.
25. Alaşalvar C, Bolling BW (2015). Review of nut phytochemicals, fat-soluble bioactives, antioxidant components and health effects. *British Journal of Nutrition* 113 (Suppl. 2): 68–78.
26. Fischer S, Glei M (2013). Health-potential of nuts. *Ernaehrungs Umschau international* 60 (12): 206–215. 210.
27. Wu L, Wang Z, Zhu J, Murad AL, Prokop LJ, Murad MH (2015). Nut consumption and risk of cancer and type 2 diabetes: A systematic review and meta-analysis. *Nutrition Reviews* 73 (7): 409–425.
28. Ros E, Mataix J (2006). Fatty acid composition of nuts. Implications for cardiovascular health. *Br J Nutr* 96: 29-35.
29. Zambon D, Sabate J, Munoz S, Campero B, Casals E, Merlos M, et al (2000). Substituting walnuts for monounsaturated fat improves the serum lipid profile of hypercholesterolemic men and women. A randomized crossover trial. *Ann Intern Med* 132: 538–46.
30. Ros E, Nunez I, Perez-Heras A, Serra M, Gilabert R, Casals E, et al. (2004). A walnut diet improves endothelial function in hypercholesterolemic subjects: A randomized crossover trial. *Circulation* 109: 1609–14.
31. Reaven P, Parthasarathy S, Grasse BJ, Miller E, Steinberg D, Witztum JL (1993). Effects of oleate-rich and linoleate-rich diets on the susceptibility of low density lipoprotein to oxidative modification in mildly hypercholesterolemic subjects. *J Clin Invest* 91: 668–76.
32. Abe LT, Lajolo FM, Genovese MI (2010). Comparison of phenol content and antioxidant capacity of nuts. *Ciênc Tecnol Aliment, Campinas* 30 (Supl.1): 254-259.
33. Ros E (2010). Health benefits of nut consumption nutrients. *Nutrients* 2: 652–682
34. Kris-Etherton PM, Hecker KD, Bonanome A, et al. (2002). Bioactive compounds in foods: Their role in the prevention of cardiovascular disease and cancer. *American Journal of Medicine* 113: 71–88.

35. Cordain L, Eaton SB, Sebastian A, Mann N, Lindeberg S, Watkins BA, O'Keefe JH, Brand-Miller J (2005). Origins and evolution of the Western diet: Health implications for the 21st century. *Am J Clin Nutr* 81: 341-354.
36. Schlörmann W, Birringer M, Böhm V, Löber K, Jahreis G, Lorkowski S, Müller A, Schöne F, Glei M (2015). Influence of roasting conditions on health-related compounds in different nuts. *Food chemistry* 180: 77-85.
37. Shahidi F, Alaşalvar C, Liyana-Pathirana CM (2007). Antioxidant phytochemicals in hazelnut kernel (*Corylus avellana* L.) and hazelnut by products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55: 1212–1220.
38. Alaşalvar C, Shahidi F (2009). Tree nuts: Composition, phytochemicals, and health effects. *Nutraceutical Science and Technology*. CRC Press, Boca Raton, FL, USA, 340.
39. Griel AE, Kris-Etherton PM (2006). Tree nuts and the lipid profile: A review of clinical studies. *Br J Nutr* 96: 68–78.
40. Köksal AI, Artık N, Simsek A, Güneş N (2006). Nutrient composition of hazelnut (*Corylus avellana* L.) varieties cultivated in Turkey. *Food Chem* 99 (3): 509–515.
41. Alaşalvar C, Shahidi F, Liyanapathirana CM, Ohshima T (2003a). Turkish Tombul hazelnut (*Corylus avellana* L.) 1. Compositional characteristics. *J Agric Food Chem* 51: 3790–3796.
42. Jakopic J, Petkovsek M, Likožar A, Solar A, Stampar F, et al. (2011). HPLC–MS identification of phenols in hazelnut (*Corylus avellana* L.) kernels. *Food Chemistry* 124: 1100–1106.
43. Pelvan E, Öktem E, Karadağ A, Alaşalvar C (2018). Phenolic profiles and antioxidant activity of Turkish Tombul hazelnut samples (natural, roasted, and roasted hazelnut skin). *Food Chemistry* 244: 102–108
44. Hicks KB, Moreau RA (2001). Phytosterols and phytostanols: Functional food cholesterol busters. *Food Technol* 55: 63–67.
45. Crews C, Hough P, Godward J, Brereton P, Lees M, Guiet S, Winkelmann W (2005). Study of the main constituents of some authentic hazelnut oils. *J Agric Food Chem* 53: 4843–4852.
46. Taş NG, Gökmen V (2015). Bioactive compounds in different hazelnut varieties and their skins. *Journal of Food Composition and Analysis* 43: 203–208.

47. Durak I, Köksal I, Kaçmaz M, Büyükoçak S, Çimen BMY, Öztürk HS (1999). Hazelnut supplementation enhances plasma antioxidant potential and lowers plasma cholesterol levels. *Clin Chim Acta* 284: 113–115.
48. Edwards K, Kwaw I, Matud J, Kurtz I(1999). Effect of pistachio nuts on serum lipid levels in patients with moderate hypercholesterolemia. *J Am Coll Nutr* 18: 229–232.
49. Mercanligil SM, Arslan P, Alaşalvar C, et al. (2006). Effects of hazelnut enriched diet on plasma cholesterol and lipoprotein profiles in hypercholesterolemic adult men. *Eur J Clin Nutr* 61: 1–9.
50. Kris-Etherton PM, Hu FB, Ros E, Sabate J (2008). The role of tree nuts peanuts in the prevention of coronary heart disease: multiple potential mechanisms. *J Nutr* 138: 1746–1751.
51. Sabate J, Wein M (2010). Nuts, blood lipids and cardiovascular disease. *Asia Pac J Clin Nutr* 19: 131–136.
52. Mazlum T (2009). Hiperkolesterolemik bireylerde findık tüketiminin serum ve plazmada oksidan-antioksidan dengeye etkisinin incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Karadeniz Teknik Üniversitesi, Trabzon.
53. Kara H (2011). Hafif düzeyde hiperkolesterolemik kişilerde findık tüketiminin eritrositlerdeki antioksidan enzimlere etkisi. Yüksek Lisans Tezi. Karadeniz Teknik Üniversitesi, Trabzon.
54. Alaşalvar C, Amaral JS, Shahidi F (2006a). Functional lipid characteristics of Turkish Tombul hazelnut (*Corylus avellana* L.). *J Agric Food Chem* 54: 10177–10183.
55. Awad AB, Chan KC, Downie AC, Fink CS (2000). Peanuts as a source of β -sitosterol, a sterol with anticancer properties. *Nutr Cancer* 36: 238-241.
56. Hollingsworth P (2001). Margarine: The over-the-top functional food. *Food Technol* 55: 59-62.
57. Segura R, Javierre C, Lizarraga MA, Ros E (2006). Other relevant components of nuts: Phytosterols, folate and minerals. *Br J Nutr* 96 (Suppl. 2): 36–44.
58. Wilson's Science World (2017). Available from: <https://wilsonscienceworld.com/>
59. Guyton AC, Hall JE (2006). Textbook of Medical Physiology. Tıbbi Fizyoloji. 11th ed. Çeviren: Çavuşoğlu H, Nobel Tıp Kitapevleri Ltd Sti, İstanbul 996-1010.

60. The Biology Corner (2017). Available from: http://www.biologycorner.com/bio3/rat_urogenital.html
61. Ichkowski KA, Sun EL, Gondod B (1991). Morphometric study of the prepubertal rabbit testis: Germ cell number and seminiferous tubule dimensions. *The American Journal of Anatomy* 190: 266-272.
62. Rodney AR, Bell DR (2017). Textbook of Medical Physiology. Tıbbi Fizyoloji. 4th ed. Çeviren: Ağar E, İstanbul Tıp Kitapevleri Ltd. Sti., İstanbul 676-692.
63. Bloom W, Fawcett DW (1994). A textbook of histology, Chapman&Hall, London.
64. Ghareeb DA, Sarhan EME (2014). Role of oxidative stress in male Fertility and idiopathic infertility: Causes and treatment. *J Diagn Tech Biomed* 2: 1.
65. Bablok L, Dziadecki W, Szymusik I, Wolczynski S, Kurzawa R, Pawelczyk L, et al. (2011). Patterns of infertility in Poland–multicenter study. *Neuro Endocrinol Lett* 32: 799–804.
66. Jungwirth A, Giwercman A, Tournaye H et al. (2012). European association of urology guidelines on male infertility. *European Urology* 62 (2): 324–32.
67. Sharma RK, Agarwal A (1996). Role of reactive oxygen species in male infertility. *Urology* 48: 835–50.
68. Kothari S, Thompson A, Agarwal A, du Plessis SS (2010). Free radicals: Their beneficial and detrimental effects on sperm function. *Indian J Exp Biol* 48: 425–35.
69. De Lamirande E, Lamothe G (2009). Reactive oxygen-induced reactive oxygen formation during human sperm capacitation. *Free Radic Biol Med* 46: 502–10.
70. Agarwal A, Virk G, Ong C, du Plessis SS (2014). Effect of oxidative stress on male reproduction. *World J Mens Health* 32: 1–17.
71. Saleh RA, Agarwal A, Nada EA, El-Tonsy MH, Sharma RK, Meyer A, Nelson DR, Thomas AJ (2003). Negative effects of increased sperm DNA damage in relation to seminal oxidative stress in men with idiopathic and male factor infertility. *Fertility and Sterility* 79: 1597-1605.
72. MacLeod J (1943). The role of oxygen in the metabolism and motility of human spermatozoa. *Am J Physiol* 138: 512–8.
73. Iwasaki A, Gagnon C (1992). Formation of reactive oxygen species in spermatozoa of infertile patients. *Fertil Steril* 57: 409–16.

74. De Lamirande E, Gagnon C (1995). Impact of reactive oxygen species on spermatozoa: A balancing act between beneficial and detrimental effects. *Hum Reprod* 10 (Suppl 1): 15–21.
75. Agarwal A, Said TM, Bedaiwy MA, Banerjee J, Alvarez JG (2006). Oxidative stress in an assisted reproductive techniques setting. *Fertil Steril* 86: 503–12.
76. Tremellen K (2008). Oxidative stress and male infertility: A clinical perspective. *Hum Reprod Update* 14: 243–58.
77. Makker K, Agarwal A, Sharma R (2009). Oxidative stress and male infertility. *Indian J Med* 129: 357–66.
78. Zalata AA, Ahmed AH, Allamaneni SS, Comhaire FH, Agarwal A (2004). Relationship between acrosin activity of human spermatozoa and oxidative stress. *Asian Journal of Andrology* 6: 313-318.
79. De Lamirande E, Tsai C, Harakat A, Gagnon C (1998). Involvement of reactive oxygen species in human sperm acrosome reaction induced by A23187, lysophosphatidylcholine and biological fluid ultrafiltrates. *Journal of Andrology* 19: 585-594.
80. Kao SH, Chao HT, Chen HW, Hwang TI, Liao TL, Wei YH (2007). Increase of oxidative stress in human sperm with lower motility. *Fertility and Sterility* 89: 1183-1190.
81. O'Brien J, Zini A (2005). Sperm DNA integrity and male infertility. *Urology* 65: 16-22.
82. Moustafa MH, Sharma RK, Thornton J, Mascha E, Abdel-Hafez MA, Thomas Jr. AJ, Agarwal A (2004). Relationship between ROS production, apoptosis and DNA denaturation in spermatozoa from patients examined for infertility. *Human Reproduction* 19: 129-138.
83. Garrido N, Meseguer M, Simon C, Pellicer A, Remohi J (2004). Pro-oxidative and anti-oxidative imbalance in human semen and its relation with male fertility. *Asian Journal of Andrology* 6: 59-65.
84. Aitken RJ, Buckingham D, West K, Wu FC, Zikopoulos K, Richardson DW (1992). Differential contribution of leucocytes and spermatozoa to the generation of reactive oxygen species in the ejaculates of oligozoospermic patients and fertile donors. *Journal of Reproduction and Fertility* 94: 451-462.

85. Nenkova G, Alexandrova A (2013). A review: oxidative stress and its role in reproduction. *Advances in Bioscience and Biotechnology* 4: 37-43.
86. Aitken RJ, Fisher HM, Fulton N, Gomez E, Knox W, Lewis B, Irvine S (1997). Reactive oxygen species generation by human spermatozoa is induced by exogenous NADPH and inhibited by the flavoprotein inhibitors diphenylene iodonium and quinacrine. *Molecular Reproduction and Development* 47: 468-482.
87. Gil-Guzman E, Ollero M, Lopez MC, Sharma RK, Alvarez JG, Thomas Jr. AJ, Agarwal A (2001). Differential production of reactive oxygen species by subsets of human spermatozoa at different stages of maturation. *Human Reproduction* 6: 1922-1930.
88. Koppers A, De Iuliis G, Finnie J, McLaughlin E, Aitken RJ (2008). Significance of mitochondrial reactive oxygen species in the generation of oxidative stress in spermatozoa. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 93: 3199-3207.
89. Agarwal A, Sekhon LH (2010). The role of antioxidant therapy in the treatment of male infertility. *Hum Fertil* 13: 217-25.
90. Agarwal A, Sekhon LH (2011). Oxidative stress and antioxidants for idiopathic oligoasthenoteratospermia: Is it justified? *Indian J Urol* 27: 74-85.
91. Minotti G, Menna P, Salvatorelli E, Cairo G, Gianni L (2004). Anthracyclines: Molecular advances and pharmacologic developments in antitumor activity and cardiotoxicity. *Pharmacol Rev* 56: 185-229.
92. Tola HT (2008). Doksorubisin ile oluşturulan deneysel kardiyotoksisite üzerine N-asetilsisteinin biyokimyasal ve histopatolojik düzeylerdeki koruyucu etkilerinin araştırılması, Uzmanlık Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi, Isparta.
93. Wei G, Xiao S, Si D, Liu C (2008). Improved HPLC method for doxorubicin quantification in rat plasma to study the pharmacokinetics of micelle-encapsulated and liposome-encapsulated doxorubicin formulations. *Biomed. Chromatogr* 22: 1252-1258.
94. Abou Seif HS (2012). Protective effects of rutin and hesperidin against doxorubicin-induced nephrotoxicity. *Beni-Suef University Journal of Applied Sciences* 1 (2): 1-18.

95. Sun AY, Simonyi A, Sun GY (2001). The “french paradox” and beyond: neuroprotective effects of polyphenols. *Free Radical Biology & Medicine* Vol. 32, 4: 314–318.
96. Hadi N, Yousif NG, Al-amran FG, Huntei NK, Mohammad BI, Ali SJ (2012). Vitamin E and telmisartan attenuates doxorubicin induced cardiac injury in rat through down regulation of inflammatory response. *BMC Cardiovascular Disorders* 12: 63.
97. Lu CC, Meistrich ML (1979). Cytotoxic effects of chemotherapeutic drugs on mouse testis cells. *Cancer Res* 39: 3575-3582.
98. Lee KM, Lee IC, Kim SH, Moon C, Park SH, Shin DH, Kim SH, Park SC, Kim HC, Kim JC (2011). Melatonin attenuates doxorubicin-induced testicular toxicity in rats. *Andrologia* 44: 796–803.
99. Sridevi T, Nisha PV, Arulnathan GA (2012). Effect of doxorubicin on the morphology, histology and karyology of male reproductive system of White mice, *Mus musculus*. *Indian Journal of Science and Technology* 5: 4.
100. Boydağ BS (1998). Deneysel diabetes mellitusta gelişen hemodinamik değişiklikler üzerine vitamin E’ nin etkisi. Uzmanlık Tezi. Eskişehir Osman Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı, Eskişehir.
101. Dökmeci İ (2007). Farmakolojik ilaçlar ve etkileri. Alfa Yayınları, 690.
102. Gökpınar Ş, Koray T, Akçiçek E, Göksan T, Durmaz Y (2006). Algal antioksidanlar. *Journal of Fisheries&Aquaatic Sciences* 23 (1/1): 85-89.
103. Kierszenbaum AL (2006). Histoloji ve hücre biyolojisi. Çev.: Demir R. Palme Yayıncılık, Ankara, 618 .
104. Gajera HP, Patel SV, Golakiya BA (2008). *Fundamentals of Biochemistry–A textbook*. International Book Distributing Co, India.
105. Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW (1993). *Harper’s Biochemistry*. Lange Medical Publication, London; 573-587.
106. Özcan O, Karaöz E, Dağdeviren A (1993). The effect of vitamin E on the colonic mucosal alterations induced by rectal hydrogen peroxide administration in the rats. *Gazi Medical Journal* 2: 61-67.
107. Dündar Y, Aslan R (1999). Bir antioksidan olarak Vitamin E. *Genel Tıp Dergisi*, 9(3): 109-16.

108. Rice D, Kendy S (1988). Vitamin E: Function and effects of deficiency. *Br Vet J* 144: 482-496.
109. Yardımoğlu M, Mısırlıoğlu D (2001). Histological effects of ethanol and protective effects of vitamin E on the morphology of seminiferous tubules of mice. *Anadolu Tıp Dergisi* 3, 3: 155-159.
110. Mather JP, Saez JM, Dray F (1983). Vitamin E prolongs survival and function of porcine leydig cells in culture. *Acta Endocrinologica* 102: 470-475.
111. Jiang Q (2014). Natural forms of vitamin E: metabolism, antioxidant, and anti-inflammatory activities and their role in disease prevention and therapy. *Free Radic Biol Med* 72: 76–90.
112. Tower J (2015a). Programmed cell death in aging. *Ageing Res Rev* 23: 90–100.
113. da Costa JP, Vitorin R, Silva MG, Vogel C, Duarte AC, Rocha-Santos T (2016). A synopsis on aging—theories, mechanisms and future prospects. *Ageing Research Reviews* 29: 90–112.
114. de Magalhães JP (2005). Open-minded scepticism: Inferring the causal mechanisms of human ageing from genetic perturbations. *Ageing Res Rev* 4: 1–22.
115. Jin K (2010). Modern biological theories of aging. *Aging Dis* 1: 72–74.
116. Vina J, Borras C, Miquel J (2007). Theories of ageing. *IUBMB Life* 59: 249–254.
117. Weinert BT, Timiras PS (2003). Invited review: Theories of aging. *J Appl Physiol* 95: 1706–1716.
118. Lipsky MS, King M (2015). Biological theories of aging. *Disease Month* 61: 460–466.
119. Boccardi V, Herbig U (2012). Telomerase gene therapy: A novel approach to combat aging. *EMBO Mol Med* 4: 685–687.
120. Harman D. (1956). Aging: A theory based on free radical and radiation chemistry. *Journal of Gerontology* 11: 298-300.
121. Halliwell B, Gutteridge J (1999). *Free radicals in biology and medicine* [3rd edn]. Oxford, Clarendon Press.
122. Gilca M, Stoian I, Atanasiu V, Virgolici B (2007). The oxidative hypothesis of senescence. *J Postgrad Med* 53: 207-213.

123. De Grey ADNJ (2005). Reactive oxygen species production in the mitochondrial matrix: Implications for the mechanism of mitochondrial mutation accumulation. *Rejuvenation Res* 8 (1): 13-7.
124. Chung, H. Y., Sung, B., Jung, K. J., Zou, Y., & Yu, B. P. (2006). The molecular inflammatory process in aging. *Antioxid. Redox. Signal.*, 8, 572-581.
125. Sanchez HL, Silva LB, Portiansky EL, Herenu CB, Goya RG, Zuccolilli GO (2008). Dopaminergic mesencephalic systems and behavioral performance in very old rats. *Neuroscience*, 154: 1598–606.
126. Kidd SA, Eskenazi B, Wyrobek AJ (2001). Effects of male age on semen quality and fertility: a review of the literature. *Fertil Steril*, 75: 237–48.
127. Handelsman DJ, Staraj S (1985). Testicular size: the effects of aging, malnutrition, and illness. *Journal of Andrology* 6: 144– 51.
128. Kelly DM, Jones TH (2013). Testosterone: A metabolic hormone in health and disease. *Journal of Endocrinology* 217: 25–45.
129. Rolf C, Kenkel S, Nieschlag E (2002). Age-related disease pattern in infertile men: Increasing incidence of infections in older patients. *Andrologia* 34: 209–17.
130. Rolf C, Behre HM, Nieschlag E (1996). Reproductive parameters of older compared to younger men of infertile couples. *International Journal of Andrology* 19: 135–42.
131. Aitken RJ, Nixon B, Lin M, et al. (2007). Proteomic changes in mammalian spermatozoa during epididymal maturation. *Asian Journal of Andrology* 9: 554–64
132. Demetrius L (2005) Of mice and men. When it comes to studying ageing and the means to slow it down, mice are not just small humans. *EMBO Rep* 6: 39–S44.
133. Surra JC, Barranquero C, Torcal MP, Orman I, Segovia JC, Guillen N, Navarro MA, Arnal C, Osada J (2013). In comparison with palm oil, dietary nut supplementation delays the progression of atherosclerotic lesions in female apoE-deficient mice. *Br. J. Nutr.* 109: 202–209
134. Estruch R, Martínez-González MA, Corella D, et al. (2006) Effects of a Mediterranean-style diet on cardiovascular risk factors: a randomized trial. *Ann Intern Med.* 145: 1–11.

- 135.**Fito M, Guxens M, Corella D, et al. (2007) Effect of a traditional Mediterranean diet on lipoprotein oxidation: a randomized controlled trial. *Arch Intern Med.* 167: 1195–1203.
- 136.**Salas-Salvado J, Fernandez-Ballart J, Ros E, et al. (2008) Effect of a Mediterranean diet supplemented with nuts on metabolic syndrome status: one-year results of the PREDIMED randomized trial. *Arch Intern Med.* 168: 2449–2458.
- 137.**Özdemir KS, Yılmaz C, Durmaz G, Gökmen V (2014). Hazelnut skin powder: A new brown colored functional ingredient. *Food Research International* 65: 291-297.
- 138.**Alaşalvar C, Karamac M, Kosinska A, Rybarczyk A, Shahidi F, Amarowicz, R (2009). Antioxidant activity of hazelnut skin phenolics. *J. Agric. Food Chem.* 57: 4645–4650.
- 139.**Patil LR, Balaraman R (2009). Effect of melatonin on doxorubicin induced testicular damage in rats. *J Pharm Tech Res* 1 (3): 879-884.
- 140.**Senthil JK, Banudevi S, Sharmila M, Murugesan P, Srinivasan N, Balasubhramanian K, Aruldas MM, Arunakaran J (2004). Effect of vitamin C and E on PCB (Aroclor 1254) induced oxidative stress, androgen binding protein and lactate in rat sertoli cells. *Reprod Toxicol* 19: 201–208.
- 141.**Demir R, Yılmaz S, Öztürk M, Üstünel İ, Demir N, Korgun ET, Akkoyunlu G (2001). Histolojik boyama teknikleri. *Palme Yayıncılık, Ankara*, 9-10.
- 142.**Johnsen SG (1970). Testicular biopsy score count a method for registration of spermatogenesis in human testes: normal values and results in 335 hypogonadal males. *Hormones* 1 (1): 2–25.
- 143.**Sönmez M, Türk G, Yüce A (2005). The effect of ascorbic acid supplementation on sperm quality, lipid peroxidation and testosterone levels of male Wistar rats. *Theriogenology* 63: 2063–72.
- 144.**Oliveira Filho AB, Souza RS, Azeredo-Oliveira MT, Peruquetti RL, Cedenho AP (2010). Microdissection testicular sperm extraction causes spermatogenic alterations in the contralateral testis. *Genet Mol Res* 9: 1405–13.

- 145.Duru NK (1998). Subfertil ve infertil sperm parametreleri. Ankara: GATA Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı Notları.
- 146.Moskovtsev SI, Librach CL (2013). Methods of sperm vitality assessment. *Methods Mol Biol* 927: 9-13.
- 147.Karagüzel E, Kutlu O, Yuluğ E, Mungan S, Kazaz IO, Tok DS, et al. (2012). Comparison of the protective effect of dipyridamole and acetylsalicylic acid on long-term histologic damage in a rat model of testicular ischemia–reperfusion injury. *J Pediatr Surg* 47: 1716–23.
- 148.Mihara M, Uchiyama M (1978). Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test. *Anal Biochem* 86: 271-278.
- 149.Yagi K (1984). Assay for blood plasma or serum. *Methods Enzymol* 105: 328-31.
- 150.Kramer KGJ, Blais L, Fouchard CR, Melnyk RA, Kallury MRK (1997). A Rapid method for the determination of vitamin E forms in tissues and diet by high-performance liquid chromatography using a normal-phase diol column. *Lipids Vol.* 32: 3.
- 151.Surai PF, Royle NJ, Sparks NHC (2000). Fatty acid, carotenoid and vitamin A composition of tissues of free living gulls. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A* 126: 387–396.
- 152.Bradford MM (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem* 72: 248-254.
- 153.Howell SJ, Shalet SM (2001). *Testicular function following chemotherapy*. *Hum Reprod Update* 7: 363–369.
- 154.Endo F, Manabe F, Takeshima H, Akaza H (2003). Protecting spermatogonia from apoptosis induced by doxorubicine using the luteinizing hormone-releasing hormone analog leuporelin. *Int J Urol* 10: 72–7.
- 155.Çeribaşı AO, Sakin F, Türk G, Sönmez M, Ateşşahin A (2012). Impact of ellagic acid on adriamycin-induced testicular histopathological lesions, apoptosis, lipid peroxidation and sperm damages. *Exp Toxicol Pathol* 64: 717–24.

- 156.Lui RC, Laregina MC, Herbold DR, Johnson FE (1986). Testicular cytotoxicity of intravenous doxorubicin in rats. *J Urol* 136: 940–3.
- 157.Mohan M, Bhandare S (2012). Protective effect of solanum torvum against testicular toxicity in male wistar rats. *Int J Pharm Pharm Sci Vol* 4, 3: 188-192.
- 158.Patra RC, Rautray AK, Swarup D (2011). Oxidative stress in lead and cadmium toxicity and its amelioration. *Vet Med Inter ID*: 457327, 9.
- 159.Johnson FC (1979). The antioxidant vitamins. *CRC Crit Rev Food Sci Nutr* 11: 217-309.
- 160.Yoganathan T, Eskild W, Hansson V (1989). Investigation of detoxification capacity of rat testicular germ cells and Sertoli cells. *Free Radic Biol Med* 7: 355-359.
- 161.Mukuddem-Petersen J, Stonehouse W, Jerling JC, Hanekom SM, White Z (2007). Effects of a high walnut and high cashew nut diet on selected markers of the metabolic syndrome: A controlled feeding trial. *Br J Nutr* 97: 1144–53.
- 162.Bes-Rastrollo M, Sabate J, Gomez-Gracia E, Alonso A, Martinez JA, Martinez-Gonzalez MA (2007). Nut consumption and weight gain in a Mediterranean cohort: the SUN Study. *Obesity. Silver Spring* 15: 107–16.
- 163.Jiang R, Manson JE, Stampfer MJ, Liu S, Willett WC, Hu FB (2002). Nut and peanut butter consumption and risk of type 2 diabetes in women. *JAMA* 288: 2554–60.
- 164.Mackenbach JP, Stirbu I, Roskam AJ, Schaap MM, Menvielle G, Leinsalu M, et al. (2008). Socioeconomic inequalities in health in 22 European countries. *N Engl J Med* 358: 2468–81.
- 165.Wien MA, Sabate JM, Ikle DN, Cole SE, Kandeel FR (2003). Almonds vs. complex carbohydrates in a weight reduction program. *Int J Obes Relat Metab Disord* 27: 1365–72.
- 166.Martinez-Gonzalez MA, Bes-Rastrollo M (2011). Nut consumption, weight gain and obesity: Epidemiological evidence. *Nutr Metab Cardiovasc Dis Suppl* 1: 40-5.
- 167.Aitken RJ, Roman SD (2008). Antioxidant systems and oxidative stress in the testes. *Oxid Med Cell Longev* (1): 15–24.

168. Türk G, Çeribaşı AO, Sakin F, Sönmez M, Ateşşahin A (2010a). Antiperoxidative and antiapoptotic effects of lycopene and ellagic acid on cyclophosphamide-induced testicular lipid peroxidation and apoptosis. *Reprod Fertil Dev* 22: 587–96.
169. Boussada M, Ali RB, Said AB, Bokri K, Akacha AB, Dziri C, El May MV (2017). Selenium and a newly synthesized Thiocynoacetamide reduce Doxorubicin gonadotoxicity in male rat. *Biomed Pharmacother* 89: 1005-1017.
170. Ateşşahin A, Türk G, Karahan I, Yılmaz S, Çeribaşı AO, Bulmuş Ö (2006). Lycopene prevents adriamycin-induced testicular toxicity in rats. *Fertil Steril* 85 (Suppl. 1): 1216–22.
171. Salvemini F, Franze A, Iervolino A, Filosa S, Salzano S, Ursini MV (1999). Enhanced glutathione levels and oxidoresistance mediated by increased glucose-6-phosphate dehydrogenase expression. *J Biol Chem* 274: 2750–7.
172. Yılmaz S, Ateşşahin A, Sahna E, Karahan I, Özer S (2006). Protective effect of lycopene on adriamycin-induced cardiotoxicity and nephrotoxicity. *Toxicology* 218:164–71.
173. Das J, Ghosh J, Manna P, Sil PC (2012). Taurine protects rat testes against doxorubicin-induced oxidative stress as well as p53, Fas and Caspase 12 mediated apoptosis. *Amino Acids* 42: 1839–1855.
174. El-Sayyad HIH, El-Sherbiny MR, Abou-El-Naga AM, Gadallah AA, Areida EK (2013). Effects of adriamycin, cisplatin, and 5-fluorouracil on the testes of albino rats. *British Journal of Medical and Health Sciences* Vol. 1, 5: 45-62.
175. Attaman JA, Toth TL, Furtado J, Campos H, Hauser R, Chavarro JE (2012). Dietary fat and semen quality among men attending a fertility clinic. *Human Reproduction* Vol.27, 5: 1466–1474.
176. Robbins WA, Xun L, FitzGerald LZ, Esguerra S, Henning SM, Carpenter CL (2012). Walnuts improve semen quality in men consuming a Western-style diet: Randomized control dietary intervention trial. *Biol Reprod* 87 (4): 101.
177. Katı B (2012). Fındık yağı ve kanola yağı ile beslenen erkek ratlarda serum hormon ve testis histopatolojisinin değerlendirilmesi. Uzmanlık Tezi. İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi, Malatya.

- 178.**Conquer JA, Martin JB, Tummon I, Watson L, Tekpetey F (2000). Effect of DHA supplementation on DHA status and sperm motility in asthenozoospermic males. *Lipids* 35: 149–54.
- 179.**Safarinejad MR, Hosseini SY, Dadkhah F, Asgari MA (2010). Relationship of omega-3 and omega-6 fatty acids with semen characteristics, and anti-oxidant status of seminal plasma: A comparison between fertile and infertile men. *Clin Nutr* 29: 100–5.
- 180.**Cominetti C, Carla de Bortoli M, Purgatto E, Ong TP, Moreno FS, Garrido AB Jr., Cozzolino SMF (2011). Associations between glutathione peroxidase-1 Pro198Leu polymorphism, selenium status, and DNA damage levels in obese women after consumption of Brazil nuts. *Nutrition* 9: 981-6.
- 181.**Stockler-Pinto MB, Mafra D, Farage NE, Boaventura GT, Cozzolino SMF (2010). Effect of Brazil nut supplementation on the blood levels of selenium and glutathione peroxidase in hemodialysis patients. *Nutrition* 26: 1065-1069.
- 182.**Jenkins DJA, Kendall CWC, Marchie A, et al. (2008). Almonds reduce biomarkers of lipid peroxidation in older hyperlipidemic subjects. *J Nutr* 138 (5): 908–913.
- 183.**Berry EM, Eisenberg S, Frietlander Y, Haratz D (1995). Effect of diets rich in monounsaturated fatty acids on plasma lipoproteins. The Jerusalem Nutritional Study: Monounsaturated vs saturated fatty acids. *Nutr MetabCardiovasc Dis* 5: 55-62.
- 184.**-Hatipoğlu A, Kanbağlı O, Balkan J, et al. (2004). Hazelnut oil administration reduces aortic cholesterol accumulation and lipid peroxides in the plasma, liver and aorta of rabbits fed a high-cholesterol diet. *Biosci Biotechnol Biochem* 68: 2050-7.
- 185.**Steidle C, Schwartz S, Jacoby K, Sebree T, Smith T & Bachand R. (2003) Aa2500 testosterone gel normalizes androgen levels in aging males with improvements in body composition and sexual function. *J Clin Endocrinol Metab* 88, 2673–2681.
- 186.**Bolona ER, Uruga MV, Haddad RM, Tracz MJ, Sideras K, Kennedy CC, Caples SM, Erwin PJ, Montori VM (2007). Testosterone use in men with sexual dysfunction: A systematic review and metaanalysis of randomized placebo-controlled trials. *Mayo Clin Proc* 82: 20–28.
- 187.**Jain P, Rademaker AW, McVary KT (2000). Testosterone supplementation for erectile dysfunction: Results of a meta-analysis. *J Urol* 164: 371–375.

188. Bostani M, Aqababa H, Hosseini SE, Ashtiyani SC (2014). A Study on the Effects of Walnut oil on Plasma Levels of Testosterone Pre and Post Puberty in Male Rats. *American Journal of Ethnomedicine* 1, 4: 266-275.
189. Hekimoglu A, Kurcer Z, Aral F, Baba F, Atessahin A, Sakin F (2010). Effects of 3-aminobenzamide on unilateral testicular ischemia-reperfusion injury: what is the role of PARP inhibition? *Can J Physiol Pharmacol.* 88(12): 1123-9.
190. Zhou DX, Qui SD, Zhang J, et al. (2006). The protective effect of vitamin E against oxidative damage caused by formaldehyde in the testes of adult rats. *Asian J Androl* 8: 584-8.
191. Al-Attar A (2011). Antioxidant effect of vitamin E treatment on some heavy metals-induced renal and testicular injuries in male mice. *Journal of Biological Sciences* 18: 63–72.
192. Wang C, Leung A, Sinha-Hikim AP (1993). Reproductive aging in the male brown-norway rat: A model for the human. *Endocrinology* 133: 2773–2781.
193. Lucio RA, Tlachi JL, Lopez AA, Zempoalteca R, Velázquez-Moctezuma J (2009). Analysis of the parameters of the ejaculate in the laboratory Wistar rat: Technical description. *Vet Mex* 40: 405–15.
194. Zubkova EV, Robaire B (2004). Effect of glutathione depletion on antioxidant enzymes in the epididymis, seminal vesicles, and liver and on spermatozoa motility in the aging brown Norway rat. *Biol Reprod* 71: 1002–8.
195. Aybek H, Aybek Z, Rota S, Şen N, Akbulut M (2008). The effects of diabetes mellitus, age, and vitamin E on testicular oxidative stress. *Fertility and Sterility* 90, 755-60.
196. Korenman SG, Morley JE, Mooradian AD, Davis SS, Kaiser FE, Silver AJ, et al. (1990). Secondary hypogonadism in older men: Its relation to impotence. *J Clin Endocrinol Metab* 71: 963–9.
197. Harman SM, Tsitouras PD, Costa PT, Blackman MR (1982). Reproductive hormones in aging men. II. Basal pituitary gonadotropins and gonadotropin responses to luteinizing hormone-releasing hormone. *J Clin Endocrinol Metab* 54: 547–51.
198. Sasano N, Ichijo S, Sasano N (1969). Vascular patterns of the human testis with special reference to its senile changes. *Tohoku J Exp Med* 99: 269–76.

- 199.**Taylor GT, Weiss J, Royalty J (1987). Chronic maintenance of rat sperm reserves into old age by previous sexual contact. *Experientia* 43: 311–2.
- 200.**Taylor GT, Weiss J, Frechmann T (1986). Ontogeny of epididymal sperm reserves during the reproductive lifespan of rats after previous sexual experiences. *J Reprod Fertil* 77: 419–23.
- 201.**Hwang K, Walters RC, Lipshultz LI (2011). Contemporary concepts in the evaluation and management of male infertility. *Nat Rev Urol* 8: 86–94.



10. ETİK KURUL ONAY BELGESİ

T.C. KARADENİZ
TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ
YEREL ETİK KURUL
BAŞKANLIĞI



KARADENİZ
TECHNICAL UNIVERSITY
ANIMAL CARE AND ETHICS
COMMITTEE

KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURUL BAŞKANLIĞI
HAYVAN DENEYLERİ ETİK KURUL ONAY BELGESİ

Çalışmasının Adı : "Fındık Tüketiminin Erkek Sıçanların Üreme Sisteminde Doksorubisin ve Yaşlanmayla Uyarılan Oksidatif Strese Etkisinin İncelenmesi"
Çalışmacılar : Prof.Dr.Asım ÖREM, Yük.Lis.Öğr.Hanife KARA, Prof.Dr.Esin YULUĞ, Y.Doç.Dr.Fulya BALABAN YÜCESAN, Y.Doç.Dr.Gökçen KERİMOĞLU, Arş.Gör.Serap ÖZER YAMAN, Yük.Lis.Öğr.Akın BODUR, Yük.Lis.Öğr.Sibel TÜREDİ
Anabilim Dalı : Tıbbi Biyokimya

Etik Kurul Dosya No 2015/ 13	Etik Kurul Toplantı Tarihi 03/03/2015	Etik Kurul Toplantı No 2015/04	Etik Kurul Karar No 6
------------------------------------	---	--------------------------------------	-----------------------------

Karadeniz Teknik Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu, Tıp Fakültesi Dekanlığı Toplantı Salonu'nda Prof.Dr.Etem ALHAN'ın başkanlığında toplanıp; "Fındık Tüketiminin Erkek Sıçanların Üreme Sisteminde Doksorubisin ve Yaşlanmayla Uyarılan Oksidatif Strese Etkisinin İncelenmesi" başlığını taşıyan tez çalışmasının, Karadeniz Teknik Üniversitesi'nde yürütülmesinin mümkün olduğuna; çalışmacıların bu çalışmayı yürütülebilecek kalifikasyonda olduklarına; araştırmanın dosyada belirtilen haliyle tıbbi etik açıdan uygun olduğuna; Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Üyelerinin oy birliği ile karar verilmiştir. (03.03.2015)

Prof. Dr. Etem ALHAN
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanı

11. ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı	Hanife KARA
Doğum Tarihi/Yeri	28/01/1982 Kahramanmaraş
E-posta	hanifekara61@gmail.com
Adres	KTÜ Tıp Fak. Tıbbi Biyokimya AbD, TRABZON

EĞİTİM BİLGİLERİ

Derece	Fakülte/Bölüm	Üniversite	Yıl
Doktora	SABE/Tıbbi Biyokimya AbD	KTÜ	2018
Yüksek Lisans	SABE/Tıbbi Biyokimya AbD	KTÜ	2011
Lisans	Fen Fak./Kimya	KTÜ	2005

AKADEMİK DENEYİM

Yok

YABANCI DİL

İngilizce, İyi, (YÖKDİL Sağlık Bilimleri, Mart 2017: 76.00)

YAYINLAR/BİLDİRİLER

- 1. K. Hanife**, Ö. Asım, B.Y. Fulya, V.K. Birgül, Ö. Cihan, A.Buket,O. Gökçe.“ Hafif Düzeyde Hiperkolesterolemik Kişilerde Fındık Tüketiminin Eritrositlerdeki Protein Oksidasyonuna Etkisinin İncelenmesi”. XXIII. Ulusal Biyokimya Kongresi, 29 Kasım-2 Aralık 2011, Adana.
- 2. K. Hanife**, Ö. Asım, B.Y. Fulya, V.K. Birgül, Ö. Cihan, A.Buket,O. Gökçe.“ Hafif Düzeyde Hiperkolesterolemik Kişilerde Fındık Tüketiminin Eritrositlerdeki Antiosidan Enzim Aktivitelerine Etkisinin İncelenmesi”. XXIII. Ulusal Biyokimya Kongresi, 29 Kasım-2 Aralık 2011, Adana
- 3. V. K. Birgül**, A. Ahmet, C. Sinan, K. Cemil, U. A. Diler, **K. Hanife**, A. Buket. “The Effects of high fat diets with and without N-Acetylcysteine supplementation on the

lipin-1 levels of serum and various tissues in rats”. Turk J Biochem 2014; 39 (1) ; 19–24.

4. T. İbrahim, D. Selim, K. Kağan, M. Sema, Ö. Y. Serap, **K. Hanife**, G. Berna, A. Yüksel, D. Orhan. “Cytotoxic Effects Of Rosa Canina On Colon Cancer Cells Through Repression Of Telomerase Expression”. XXVII. Ulusal Biyokimya Kongresi, 3-6 Kasım 2015, Belek, Antalya.

5. M. Ş. Tuğba, **K. Hanife**, B. Y. Fulya, Ö. Asım, Ö. Cihan, A. A. Buket, K. Birgül. “The Effect Of Hazelnut Glutathione Reductase Peroxidase In Hypercholesterolemic Subjects”. XXVII. Ulusal Biyokimya Kongresi, 3-6 Kasım 2015, Belek, Antalya.

6. K. K. Nurçin, V. K. Birgül, Ö. Asım, A. A. Buket, **K. Hanife**. “ The Levels of Acylation Stimulating Protein and Chemerin During Fasting and Postprandial States in Health People”. XIX Lipid Meeting Leipzig, 10-12 Aralık 2015, Leipzig, Germany.

7. K. Dilek, E. Engin, B. Ahmet, D. Yücel, K. Selçuk, A. Ali, V. K. Birgül, B. Zümrüt, C. Emine, **K. Hanife**. “ Dexmedetomidinin İyonize Radyasyona Bağlı Oksidatif Hasarı Önlemedeki Profilaktik Etkileri ”. 22. Ulusal Göğüs Kalp Damar Anestezi ve Yoğun Bakım Derneği Kongresi, Muğla.

8. M. Rahimi, F. Balaban Yucesan, **H. Kara**, A. Orem, B. Akcan Altinkaynak, B. Vanizor Kural, S. Ozer Yaman, Y. Altinkaynak, C. Orem. “Determination of Oxidant-Antioxidant Status at Postprandial Lipemia”. The FEBS Journal 283 (Suppl. 1) (2016) 127–128.