



**T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÜROLOJİ ANABİLİM DALI**

**FARELERDE LPS İLE OLUŞTURULAN ORŞİT
ÜZERİNE ALFA-LİNOLENİK ASİTİN KORUYUCU
ETKİSİ**

**Dr. Fesih OK
UZMANLIK TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Erkan DEMİR**

ADANA-2019



**T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÜROLOJİ ANABİLİM DALI**

**FARELERDE LPS İLE OLUŞTURULAN ORŞİT
ÜZERİNE ALFA-LİNOLENİK ASİTİN KORUYUCU
ETKİSİ**

**Dr. Fesih OK
UZMANLIK TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Erkan DEMİR**

**Bu çalışma, Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından TTU-
2016-6670 proje numarası ile desteklenmiştir.**

ADANA-2019

TEŞEKKÜR

Tez danışmanlığımı sabırla yürüten, bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan tez hocam Sayın Prof. Dr. Erkan Demir'e,

Tezimin yapımında ve oluşumunda her türlü özveriyi gösteren farmakoloji ana bilim dalından Doç. Dr. H. Mahir Kaplan'a ve deney hayvanları laboratuvarı çalışanlarına,

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve becerilerimi kazanmamda katkılarını gördüğüm hocalarım Prof. Dr. Şaban Doran'a, Prof. Dr. M. Zühtü Tansuğ'a, Prof. Dr. Nihat Satar'a, Prof. Dr. Yıldırım Bayazıt'a, Prof. Dr. İ. Atilla Arıdoğan'a, Doç. Dr. Volkan İzol'a, Uzm. Dr. Mutlu Değer'e,

Birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum sevgili asistan arkadaşlarıma ve bölüm personeline, tezimin her aşamasında desteklerini esirgemeyen sevgili arkadaşlarım Bahattin Kızılgök ve İbrahim Halil Şükür'e

Projemizi destekleyen Çukurova Üniversitesi Rektörlüğü Bilimsel Araştırma Projeleri Fonu'na,

Bugünlere gelmemi sağlayan, hayatım boyunca sürekli yanımda olan, sevgi ve desteklerini her daim yakından hissettiğim aileme,

Her zaman sevgisini ve desteğini yanımda hissettiğim sevgili eşim Zahide Orhan Ok'a ve varlığı ile hayatımıza renk katan biricik oğlum Aras Emre Ok'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Fesih OK

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	I
İÇİNDEKİLER	II
TABLolar LİSTESİ.....	IV
ŞEKİLLER LİSTESİ	V
KISALTMALAR LİSTESİ	VI
ÖZET	VII
ABSTRACT.....	VIII
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Testis Anatomisi	2
2.1.1. Testisin Arteriyel Sistemi	3
2.1.2. Testisin Venöz Sistemi	3
2.1.3. Testisin Nöronal Anatomisi	4
2.2. Testis Embriyolojisi	5
2.2.1. Gonadlar.....	5
2.2.2. Testis	5
2.2.3. Erkek Genital Kanalları	6
2.2.4. Testislerin İniş Süreci	6
2.2.5. Testislerin Gelişimi.....	7
2.3. Testis Histolojisi ve Spermiyogenez.....	8
2.3.1. Seminifer Tübüller	8
2.3.2. Spermatogenez.....	9
2.3.3. Spermiyogenez.....	10
2.3.4. İnterstisyel Doku.....	11
2.3.5. Rete Testis.....	12
2.3.6. Efferent Kanallar.....	12
2.3.7. Epididimal Kanal	12
2.3.8. Defferent Kanal.....	13
2.3.9. Ejekülatör Kanal	13
2.4. Testiküler İnflamasyon ve İmmünoloji.....	14
2.4.1. Testisin İmmünolojik Komponentleri ve Kan-Testis Bariyeri	14
2.4.1.1. Testisin İmmün Sistemden Korunması.....	14
2.4.1.2. Testiküler İnflamasyonda Etyolojik Faktörler	15
2.4.1.3. Testiküler İnflamasyonda Hormonal Düzenleme	15
2.4.1.4. Testiküler İnflamasyonda Sitokinlerin Etkisi	16
2.4.1.5. Testiküler İnflamasyonda Hücrelerin Etkisi	16
2.4.2. Bakteriyel Lipopolisakkarid ile Oluşturulan Testiküler İnflamasyon	16
2.4.3. NO, İNOS ve NFκB.....	19
2.4.4. Sitozolik fosfolipazA ₂	19
2.4.5. Siklooksijenaz (COX) Yolağı ve Siklooksijenaz-2	20
2.5. Esansiyel Yağ Asitleri	22
3. GEREÇ ve YÖNTEM	26
3.1. ELISA Deneyleri	26
3.1.1. Doku Homojenizasyonu	26
3.1.2. Protein Miktar Tayini.....	27

3.1.3. ELİSA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) Testi	27
3.1.3.1. ELİSA Siklooksijenaz 2 Enzim Miktar Tayini	27
3.1.3.2. ELİSA Fosfolipaz A ₂ Enzim Miktar Tayini	27
3.1.3.3. ELİSA İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz Enzim Miktar Tayini	28
3.1.3.4. IL-6 ve TNF α Miktar Tayini	28
3.2. Sonuçların değerlendirilmesi	28
4. BULGULAR	29
4.1. ELISA Deneyleri	29
4.1.1. Siklooksijenaz-2 Enzim Düzeyleri	29
4.1.2. sFLA ₂ Enzim Düzeyleri	29
4.1.3. iNOS Enzim Düzeyleri	30
4.1.4. NF κ B Düzeyleri	31
4.1.5. IL-6 Düzeyi	31
4.1.6. TNF α Düzeyi	31
5. TARTIŞMA	33
6. SONUÇ	36
7. KAYNAKLAR	37
8. ÖZGEÇMİŞ	44

TABLULAR LİSTESİ

Tablo No

Sayfa No

Tablo 1. ALA'in orşit kaynaklı inflmatuar enzim ve mediyatör düzeylerine etkisi.....	31
Tablo 2. ALA'in orşit kaynaklı IL-6 ve TNF α düzeylerine etkisi.....	32

ŞEKİLLER LİSTESİ

<u>Sekil No</u>	<u>Sayfa No</u>
Şekil 1. Testisin anatomik görünümü.....	2
Şekil 2. Testis vasküler anatomisi.....	4
Şekil 3. Testislerin inişi.....	7
Şekil 4. Spermatogenez.....	10
Şekil 5. Kan-testis bariyeri ve immün hücreler.....	14
Şekil 6. Gram negatif bakteri duvarı ve LPS	17
Şekil 7. GHA 'de mediyatörler ve yolaklar.....	18
Şekil 8. Siklooksijenaz yolağı	21
Şekil 9. Omega 3 ve 6 yağ asitleri	23
Şekil 10. Yağ asiti metabolizması	24
Şekil 11. LPS uygulanan farelerin testislerindeki siklooksijenaz-2 enzimine ALA 'in etkisi (n=10).....	29
Şekil 12. LPS uygulanan farelerin testislerindeki fosfolipaz A ₂ enzimine ALA 'in etkisi (n=10).....	30
Şekil 13. LPS uygulanan farelerin testislerindeki iNOS enzimine ALA 'in etkisi (n=10)	30
Şekil 14. LPS uygulanan farelerin testislerindeki NFκB düzeyine ALA 'in etkisi (n=10).....	31

KISALTMALAR LİSTESİ

- ALA** : Alfa Linolenik Asit (*Alpha Linolenic Acid*)
- AMH** : Anti MüLlerian Hormon
- AP** : Aktivatör Protein
- ASA** : Antisperm Antikor
- CGRP** : Kalsitonin Genle İlişkili Peptid
- COX** : Siklooksijenaz (*Cyclooxygenase*)
- DHA** : Dekosahegzaenoik Asit
- ELISA** : Enzim Bağlı İmmünosorbent Testi (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*)
- EPA** : Eikosapentaenoik Asit
- FLA** : Fosfolipaz (*Phospholipase*)
- GHA** : Germ Hücre Apoptozisi
- HUFA** : Yüksek Doymamış Yağ Asitleri (*Highly Unsaturated Fatty Acids*)
- IFN** : Interferon
- IL** : İnterlökin (*Interleukin*)
- İNOS** : İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz
- LO** : Lipoksijenaz
- LPS** : Lipopolisakkarid
- LT** : Lökotrien
- MAPK** : Mitojen İle Aktive Edilmiş Protein Kinaz
- Nfkb** : Nükleer Faktör Kappa B
- NK** : Doğal Öldürücü (Natutrel Killer)
- PG** : Prostaglandin
- PUFA** : Poliansature Yağ Asitleri (*Polyunsaturated Fatty Acids*)
- ROT** : Reaktif Oksijen Türleri
- TAF** : Trombosit Aktive Edici Faktör
- TBF** : Testis Belirleyici Faktör
- TGF** : Dönüştürücü Büyüme Faktörü (*Transforming Growth Factor*)
- TLR** : Toll Benzeri Reseptör (*Toll Like Receptor*)
- TNF** : Tümör Nekroz Faktör (*Tumor Necrosis Factor*)

ÖZET

Farelerde LPS ile Oluşturulan Orşit Üzerine Alfa-linolenik Asitin Koruyucu Etkisi

Giriş ve Amaç: Çoklu doymamış yağ asitlerinden biri olan alfa-linolenik asit (ALA), insan yaşamının devamlılığı açısından çok önemlidir. ALA, kalp ve kardiyovasküler sistem için koruyucu bir besindir. Bununla birlikte ALA'nın çok güçlü anti-inflamatuvar ve anti-oksidan özellikleri de mevcuttur. Bakteriyel lipopolisakkarid (LPS) ile orşit oluşturulması inflamatuvar mediyatörlerin ekspresyonunun artmasına neden olur. Bu amaçla anti-inflamatuvar özelliği olan ALA'in LPS ile oluşturulan orşit üzerine olan etkisini belirlemeyi amaçladık.

Gereç ve Yöntem: Fareler; kontrol, orşit ve orşit + ALA uygulanan, olmak üzere üç gruba ayrıldı. Farelere intraperitoneal LPS uygulanması ile orşit oluşturuldu ve ALA ile tedavi edildi. Ardından farelerin testis dokularından siklooksijenaz-2(COX-2), fosfolipaz A₂(FLA₂), indüklenbilir nitrik oksit sentaz (iNOS) ve nükleer faktör kapp B (NFκB) düzeyleri ile serumlarında IL-6 ve TNFα düzeyleri ELISA yöntemiyle ölçüldü. İstatistiksel karşılaştırmalı analiz için tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve *post hoc* doğrulama testi olarak ta Bonferoni kullanıldı.

Bulgular: Farelere LPS uygulaması, IL-6, TNFα ve NFκB gibi inflamatuvar mediyatörlerin ve COX-2, FLA₂ ve iNOS enzimlerinin ekspresyonunu arttırdığı gözlemlendi. ALA uygulamasının bu mediyatör ve enzim düzeylerini anlamlı olarak azalttığı tespit edildi.

Sonuç: Bu çalışma ALA'in LPS kaynaklı testiküler inflamasyon ve testis hasarı için faydalı olabileceğini göstermiştir. Bu çalışma, araştırmacılara gram negatif bakterilerin neden olduğu testiküler inflamasyonun önemli noktalarını ortaya çıkarmada yardımcı olacaktır.

Anahtar Kelimeler: Orşit, LPS, inflamasyon, alfa-linolenik asit, fare

ABSTRACT

Protective Effect of Alpha-linolenic Acid on LPS Induced Orchitis in Mices

Introduction and Objective: Alpha-linolenic acid (ALA) which is one of polyunsaturated fatty acids is very important for human life. ALA is a protective nutrient for the heart and cardiovascular system. However, ALA has very strong anti-inflammatory and anti-oxidant properties. Increases in the expression of inflammatory mediators are accompanied orchitis induced by lipopolysaccharide (LPS). Therefore, we aimed to determine whether ALA, which has anti-inflammatory properties, is protective effect against LPS-induced orchitis.

Material and Method: Mices were divided into three groups as control, orchitis and orchitis + ALA applied. Orchitis were induced by intraperitoneal LPS application in mice and treated with ALA than cyclooxygenase-2, phospholipase A2, inducible nitric oxide synthase (iNOS) enzymes and nuclear factor kappa-B (NFκB) were analyzed by Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA) method in their testes, IL-6 and TNFα in their serum. Differences in results between tissues were tested by one way analysis of variance (ANOVA) and corrected by Bonferroni multiple-comparison test.

Results: LPS administration to the mices increased the expression of inflammatory mediators such as IL-6, TNFα and NFκB and COX-2, FLA2 and iNOS enzymes. It was determined that ALA treatment significantly reduced these mediators and enzymes levels.

Conclusion: This study showed that the ALA can be beneficial for LPS-induced testicular inflammation and testicular damage. This study will help the researcher to identify important points of testicular inflammation caused by Gram negative bacteria.

Keywords: Orchitis, LPS, inflammation, alpha-linolenic acid, mice

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Doymuş yağ asitleri oda sıcaklığında katı halde bulunurlar ve vücutta birikebilirler. Çoklu doymamış yağ asitleri ise oda sıcaklığında sıvı haldedirler ve insan hayatının devamlılığı için de çok önemlidirler. Bundan dolayı temel yağ asitleri olarak adlandırılırlar. Omega-6 ve omega-3 yağ asitleri olmak üzere iki gruba ayrılırlar. Omega-6'ların ana kaynağı yüksek oranda linoleik asit içeren mısır ve soya fasulyesi yağdır. Omega-3 ise keten tohumu, ceviz ve özellikle planktonlar ile yağlı balıklarda bol miktarda bulunur, keten tohumu ve cevizde alfa-linolenik asit (ALA), balık yağlarında ise Eikosapentaenoik asit (EPA) ve Dekosahegzaenoik asit (DHA) en önemli yağ asitleridir. EPA ve DHA'nın mutlaka dışardan alınması gerekir. Çünkü vücut tarafından sentezlenemedikleri için elzem yağ asitleri olarak adlandırılırlar. Çalışmamızda kullanacağımız ALA kalp ve kardiyovasküler sistem için koruyucu bir besindir. Araşidonik asit yapısına katılan DHA ve EPA'in öncül maddesidir. ALA'in antioksidan etkinliği vardır. oksidatif stresi azaltması inflamasyonun önlenmesine de katkı sağlar.

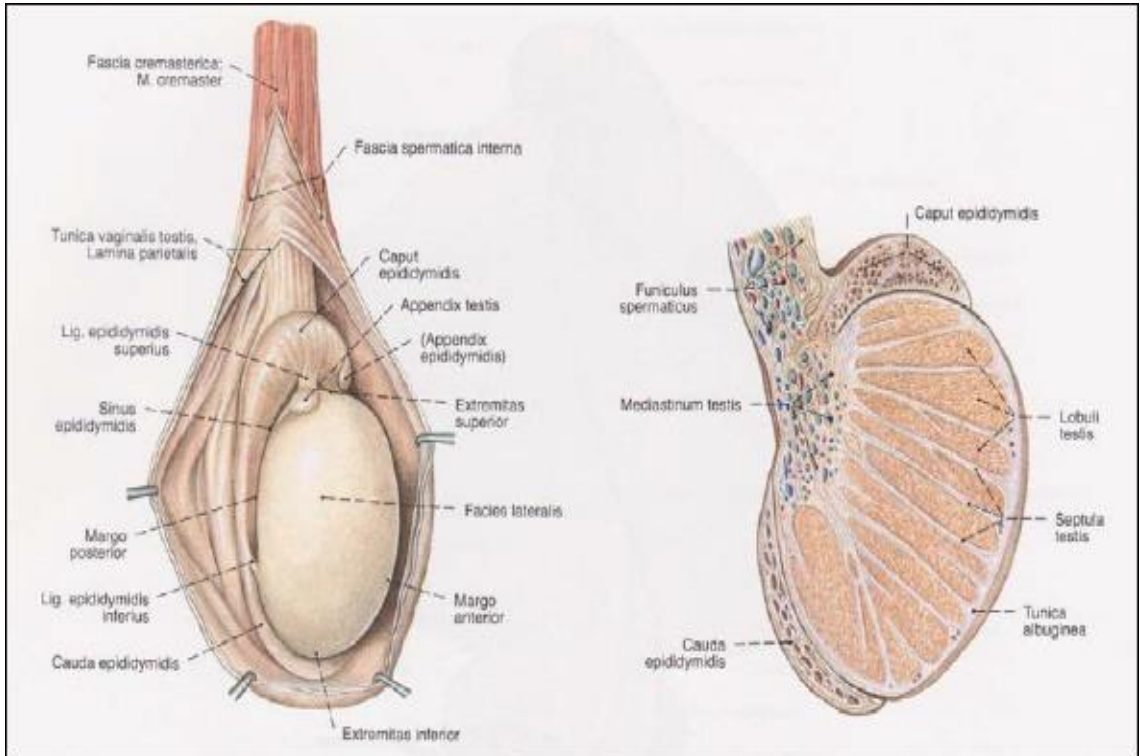
ALA nükleer faktör kappa-B (NF-kB) translaokasyonunu ve mitojen ile aktive edilmiş protein kinaz (MAPK)'ın fosforilasyonunu inhibe eder. Bu inhibisyon iNOS, COX-2, TNF-alfa gibi inflamatuvar faktörlerinin düzeylerini azaltarak inflamatuvar yanıtı azaltır. LPS ile orşit oluşturulan farelerde inflamatuvar ajanların artışı eşlik etmektedir. Bu nedenle antioksidan ve antiinflamatuvar özelliği gösterilen ALA'in LPS ile oluşturulan orşit üzerinde koruyucu etkinliği olup olmayacağını inflamatuvar medaitörler ve enzimlerden COX-2, FLA₂, iNOS, NF-kB, IL-6 ve TNF α düzeylerini ELISA yöntemiyle analiz ederek araştırmayı amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Testis Anatomisi

Testisler, 4×3×3 cm boyutlarında olup ortalama olarak 30 ml hacime sahiptir. Genellikle sol testis, sağ testisten 1 cm daha aşağıda yerleşmektedir.¹ Testisler dıştan içe doğru tunika vaginalis, tunika albuginea ve tunika vaskulosa olmak üzere 3 tabakadan oluşur. Tunika vaginalis visseral ve parietal olmak üzere iki tabakadan oluşur. Bu iki tabaka arasındaki seröz sıvının artması ile hidrosel meydana gelir.

Epididimis, testisin posterolateral yüzeyine yapışır. Seminifer tübüller iki ucu da rete testiste sonlanan ‘V’ şeklinde tübüllerdir. Her testiste yaklaşık olarak 600-1000 adet seminifer tübül bulunmaktadır. Rete testis, 6-12 adet duktuli efferentes in birleşmesiyle oluşur. Her bir lobülden gelen duktuli efferentes tek bir epididim duktusuna drene olur. Bu kanalın, kuyruğa doğru çapı ve kalınlığı artarak duktus deferens meydana gelir (Şekil 1).²



Şekil 1. Testisin anatomik görünümü

2.1.1. Testisin Arteriyel Sistemi

Testisler, başlıca üç arteriyel sistem tarafından kanlanmaktadır (Şekil 2).

1. İnternal spermatik (Testiküler) arter
2. Eksternal spermatik (Kremasterik) arter
3. Deferensiyel (Vazal) arter

1. Testiküler (İnternal Spermatik) Arter

Testisin en önemli arteridir. Testis kan akımının 2/3'sini sağlar.³ Abdominal aortadan, renal arterin altından anterolateral yüzden çıkar. Testis orta polde, posteriorda, epididimisin altında tunikayı oblik olarak geçerek testise girer.

İnternal spermatik arter alt polde deferensiyel ve kremasterik arterlerle, üst polde deferensiyel arterle anastomoz yapar.⁴

2. Kremasterik (Eksternal Spermatik) Arter

Testis kan akımının yaklaşık %15-20'sini sağlar. A.epigastrika inferior'dan internal inguinal halka seviyesinde dallanır. İnternal spermatik ve deferensiyel arterlerle anastomoz yaparak tunika vaginalis'te sonlanır.

3. Vazal (Deferensiyel) Arter

Testis kan akımının 1/6'ini sağlar. A. vezikalıs superior veya inferior'dan çıkar, vaz deferens ve epididimisi besler.

2.1.2. Testisin Venöz Sistemi

Testiküler venöz drenaj dört ayrı sistemle olmaktadır.

1. Testiküler (İnternal Spermatik) Ven
2. Kremasterik (Eksternal Spermatik) Ven
3. Vazal (Deferensiyel) Ven
4. Gubernakuler Ven

1. Testiküler (İnternal Spermatik) Ven

İnternal spermatik arterle birlikte seyreder, solda renal vene dik olarak, sağda V. cava inferiora oblik olarak açılır. Sol internal spermatik ven sağdakinden 8-10 cm daha uzundur.⁵

2. Kremasterik (Eksternal Spermatik) Ven

Spermatik kordun posteriorunda yer alır, eksternal inguinal halka bölgesinde yüzeyel ve derin inferior epigastrik venlere açılır.

3. Vazal (Deferensiyel) Ven

Vaz deferense eşlik eder, süperior-inferiorvezikal ven'ler üzerinden internal iliak ven'e açılır.

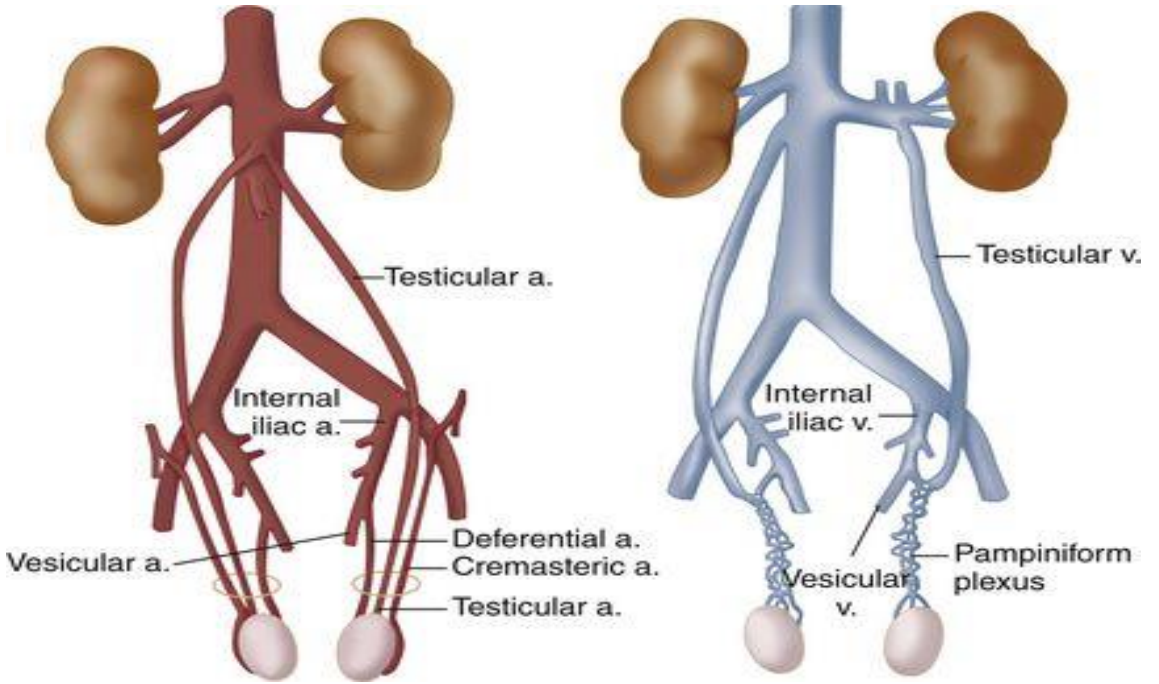
4. Gubernakular Ven

Eksternal pudental ven, safen ven üzerinden eksternal iliak vene açılır.

Pleksus Pampiniformis

Testisin posteriyorundan ilerleyen venler, mediastenden gelen küçük venlerle ve vas deferens venleri ile birleşir ve pleksus pampiniformisi oluşturur. Pleksus pampiniformis spermatik kordun içinde inguinal kanaldan geçerek sağda vena kava inferior, solda ise renal vene açılır (Şekil 2).⁵

Testisin lenfatik drenajı 4-8 adet lenfatik damar ile spermatik korddan geçerek paraaortik lenf nodlarına açılır.⁶



Şekil 2. Testis vasküler anatomisi

2.1.3. Testisin Nöronal Anatomisi

Testisin innervasyonu, süperior mezenterik ve renal arter bölgesindeki aortik pleksuslar ve kollateral ganglionlar ile ilişkili sempatik lifler ve genel visseral duyu lifleri ile sağlanır.⁷ Ağrı ile ilgili spinal kord düzeyleri, torasik ve splanknik sinirlerin de

çıktıkları T5-T12 seviyesidir. Genitofemoral sinirin genital dalı (L1-L2) inguinal kanala internal inguinal halka seviyeinden giriş yapar. Bu dal kremasterik kasın innervasyonunu sağlar. İlioinguinal sinir (L1) krista iliaka anterior süperior yakınında eksternal ve internal oblik kaslar arasından çıkar, kanala girer ve dış inguinal halkadan çıkar. İlioinguinal sinir penis kökünün cildinin, skrotum'un üst kesiminin, uyluğun üst medial bölümünün innervasyonunu sağlar.⁸

Pelvik pleksusa anestezi yapılması inatçı testis ağrılarında kullanılır. Bazı afferent ve efferent sinirler karşı tarafın pelvik pleksusuna karışabilir.⁹ Bu nöronal çaprazlık bir testisteki patolojinin karşı taraf testisinin fonksiyonlarını da etkileyebileceğini açıklar.

2.2. Testis Embriyolojisi

2.2.1. Gonadlar

Embriyonun cinsiyeti, fertilizasyon esnasında belli olmasına rağmen, gonadların erkek veya dişi özellikleri ancak 7. haftadan sonra gözlenir. Gonadlar başlangıçta genital yada gonadal kabartılar adı verilen kölomik epitelin proliferasyonu ve mezenşimin yoğunlaşmasıyla oluşan uzunlamasına şişliklerdir. Germ hücreleri 6. haftaya kadar genital kıvrımlar içinde görülmezler.¹⁰

Primordial germ hücreleri, 4. haftada umbilikal kese (yolk kesesi veya vitellus kesesi) duvarında, endodermal hücreler arasında ortaya çıkarlar. Embriyonun katlanması esnasında primordiyal germ hücreleri son barsak mezenteri boyunca gonadal kabartılara göç ederler. Gelişimin 6. haftasında primordiyal germ hücreleri altındaki mezenşim içerisine girerler. Bunlar burada primitif cinsiyet kordonları oluştururlar. Hem erkek hem dişi embriyolarda bu kordonlar yüzey epiteline bağlıdır ve bu dönemde erkek veya dişi gonadların ayırılması çok zordur. İşte bu devredeki gonad farklanmamış gonad olarak adlandırılır.¹⁰

2.2.2. Testis

Embriyo genetik olarak erkekse, primordial germ hücrelerinin cinsiyet kromozomları XY dir. Y kromozomun kısa kolu üzerindeki testis belirleyici faktör (TBF) için SRY geni farklanmamış gonadın testis olarak gelişiminde bir anahtar fonksiyonu görmektedir. Testis belirleyici faktör gonadal kordonları uyararak, onların

farklanmamış gonadın medullanın derinliklerine doğru uzamasını sağlar. Kordonlar burada dallanarak birbirleriyle anastomoz yaparlar ve böylece rete testis meydana gelir.

Seminifer tübüller, interstisyel hücreleri (Leydig hücreleri) oluşturan mezenşim ile ayrılmışlardır. 8. haftadan itibaren Leydig hücreleri, androjenik hormonları testosteron ve androstenedion salgılamaya başlarlar. Bu hormonlar mezonefrik kanalların ve dış genitalin erkek yönünde farklanmasını uyarırlar. Testisler artık genital kanal ve dış genital organların cinsiyetini etkileyecek hale gelmiştir.¹⁰

Puberteye kadar solid halde kalan testis kordonları pübertede lümenleri açılarak seminifer tübüller haline gelirler. Seminifer tübüller rete testis tübüleriyle birleşir ve duktuli eferentlere bağlanırlar. Bu eferent duktuslar mezonefrik sistemin geride kalmış boşaltım tübülleridir. Duktus deferens olarak bilinen bu kanallar, rete testis ile mezonefrik veya Wolffian kanallarını birbirine bağlarlar.¹⁰

2.2.3. Erkek Genital Kanalları

Mezonefroz gerilerken, epigenital tübüller adı verilen birkaç boşaltım kanalı rete testis kordonları ile birleşerek duktuli efferentesleri oluşturur. Mezonefrik kanallar kıvrıntılı bir yapı oluşturarak duktus epididimisi meydana getirirler. Duktus deferensin seminal vezikülden sonraki parçasına ejakulatuar kanal denir. Paramezonefrik kanallar erkeklerde kranial uçlarındaki küçük bir kısım dışında dejenere olurlar.

2.2.4. Testislerin İniş Süreci

Testisin kaudal kısmında ekstrasellüler matriksten zengin, yoğun mezenşimal yapıya gubernakulum adı verilir. Bu mezenşimal yapı testisin aşağı iniş sürecinden önce inguinal bölgede, internal ve eksternal abdominal oblik kasların arasında sonlanır. Testis inguinal halkaya doğru hareket etmeye başladığında gubernakulumun extraabdominal parçası da inguinal bölgeden skrotal şişliğe doğru uzamaya başlar.

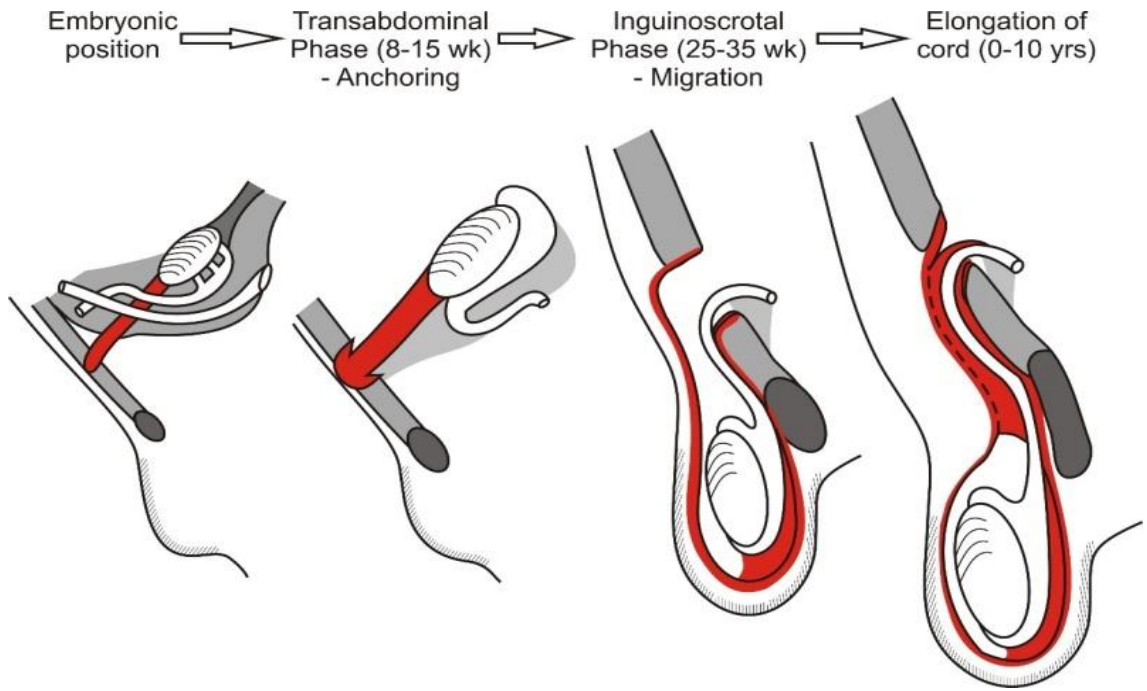
Testisin inişinin iki aşaması vardır.

1) Transabdominal evre: Bu evre androjen bağımsızdır ve anti Müllierian hormon etkisiyle gerçekleşir. Testis karın arka duvarı boyunca inmeye başlar; gebeliğin 17. haftasında iç inguinal halka seviyesine gelir ve gebeliğin dördüncü ayına kadar burada kalır.

2) **İnguinoskrotal evre:** Testis bu dönemde inguinal kanal içinden karın ön duvarını geçerek skrotuma iner. Testis gebeliğin yedinci ayından sonra inguinal kanaldan geçmiş ve yapısal gelişimini tamamlayarak skrotumdaki yerini alır (Şekil 3).¹⁰ Androjenler, gubernakulum, epidermal büyüme faktörü, desendin, kalsitonin genle ilişkili peptid (CGRP), genitofemoral sinir ve karın içi basıncı gibi faktörlerin inguinoskrotal inişte rol oynadığı düşünülmektedir.

Testislerin inişi sürecinde, periton karın ön duvarında orta hattının her iki tarafında cepler meydana getirir. Processus vaginalis olarak bilinen bu periton cepleri, gubernakulumu izleyerek skrotuma doğru hareket ederler.

Testis skrotumda processus vaginalis içinde bulunur. Processus vaginalis içten dışa visseral ve pariyetal tabakalardan oluşur. Processus vaginalisi periton boşluğuna bağlayan kanal doğumdan kısa bir süre sonra kapanır.



Şekil 3. Testislerin inişi

2.2.5. Testislerin Gelişimi

Y kromozomun kısa kolu üzerindeki testis belirleyici faktör (TBF) için SRY geni farklılaşmamış gonadın testis olarak gelişmesinde kilit bir rol oynamaktadır. Transkripsiyon faktörü olan Sox9 da testiküler farklılaşma için gereklidir. TBF gonadal kordonları uyararak, onları farklılaşmamış gonadın medullasına doğru ilerlemesine

neden olur. Kordonlar burada dallanıp anastomoz yaparak rete testis oluştururlar. Gonadal kordonların –seminiferöz kordonlar- tunica albuginea geliştikten sonra, yüzey epiteli ile olan bağlantıları kaybolur.

Seminiferöz tübüller, interstisyel hücreleri (Leydig hücreleri) meydana getiren mezenşim ile birbirlerinden ayrılmışlardır. Leydig hücreleri, 8. haftadan itibaren androjenik hormonları (testosteron ve androstenedione) salgılamaya başlarlar. Bu hormonlar dış genitalerin ve mezonefrik kanalların erkek yönünde farklılaşmasını sağlarlar.

Testosteronla birlikte, fetal testisler glikoprotein yapıda olan Anti Müllerian Hormon (AMH) salgırlar. Sertoli hücreleri (destek hücreleri) tarafından salgılanan bu hormon, uterus ve tuba uterinalara farklı paramezonefrik (müllerian) kanalların gelişimini baskılar. Bu hormonun salgılanması puberte dönemine kadar devam eder. Seminiferöz tübüllerin puberteye kadar lümenleri yoktur ancak puberteden sonra lümen gelişir.

2.3. Testis Histolojisi ve Spermiyogenez

Testisler; üreme fonksiyonları ve embriyolojik gelişim üzerine etkili olan ekzokrin ve endokrin bir çift organdır. Embriyolojik erkek fetüs gelişimi için testislerde üretilen androjenlere ihtiyaç vardır. Puberte ile birlikte testislerden salınan testosteron sperm üretiminin başlaması ve sekonder seks karakterlerinin gelişimi için çok önemlidir. Erişkin dönemde de sperm üretiminin devamı, sekonder seks karakterlerinin korunması ve yardımcı bezlerin fonksiyonlar göstermesinde testislerin önemli rolü vardır.

Testisler, içten dışa tunika vasküloza, tunika albuginea ve tunika vajinalis olmak üzere üç tabakadan oluşur. Tunika albuginea kapsülün en kalın ve belirgin tabakasıdır.¹¹ Tunika albuginea testisin arka yüzünde kalınlaşarak mediastinum testisi meydana getirir.¹² Kapsülden testisin iç kısmına doğru seyreden tunika albuginea'nın ince uzantıları testisi lobüllere ayırır.

2.3.1. Seminifer Tübüller

Testis lobülleri kan damarları, sinirleri ve interstisyel hücreleri içeren gevşek bağ dokusu ile sınırlı seminifer tubüllerden meydana gelir. Seminifer tubüller sperm

üretimini yapıldığı kıvrımlı tubüllerdir. Her testiste ortalama 250-300 adet tübül bulunur. Lobüllerin apeksinde düz seyreden tübüllere tubuli rekti denir. Düz tübüller mediastinumdaki rete testis ile devam eder. Rete testis, duktuli efferentes ile epididimisin baş kısmına bağlanır. Seminifer tubüllerin yüzeyi seminifer epitel ile kaplıdır.

Seminifer epitel iki hücre grubundan oluşur. Birinci grup hücreler germ hücreleri olan spermatogenetik hücrelerdir. İkinci grup hücreler ise germ hücrelerine destek olan sertoli hücreleridir. Sertoli hücreleri bazal membrandan tübül lümenine kadar uzanırlar. Spermatogenetik hücreler ise sertoli hücrelerinin lateral uzantıları ile oluşan kısımlarda bulunurlar. Bu hücre grupları arasındaki sıkı bağlantılarla kan-testis bariyeri meydana gelir.

Seminifer tubüllerin karbonhidrat, iyon, aminoasit ve protein içeriği; kan ve lenf içeriğinden oldukça farklıdır. Kan-testis bariyeri ile oluşan bu fark germ hücrelerinin kan yolu ile gelen zararlı maddelere karşı korunmasını sağlar. Spermatogenetik hücreler birbiri üzerine sıralanmış farklı gelişim aşamaları gösterir. Bunlardan bazal membrane en yakını spermatogonyumlardır. Lümene en yakın bulunan, daha olgun hücreler ise spermatidlerdir. Lümente ise spermiumlar bulunur. Seminifer tübüllerin enine kesitinde spermatogenetik hücreler bazı özellikleri ile birbirlerinden ayırt edilebilirler.¹¹

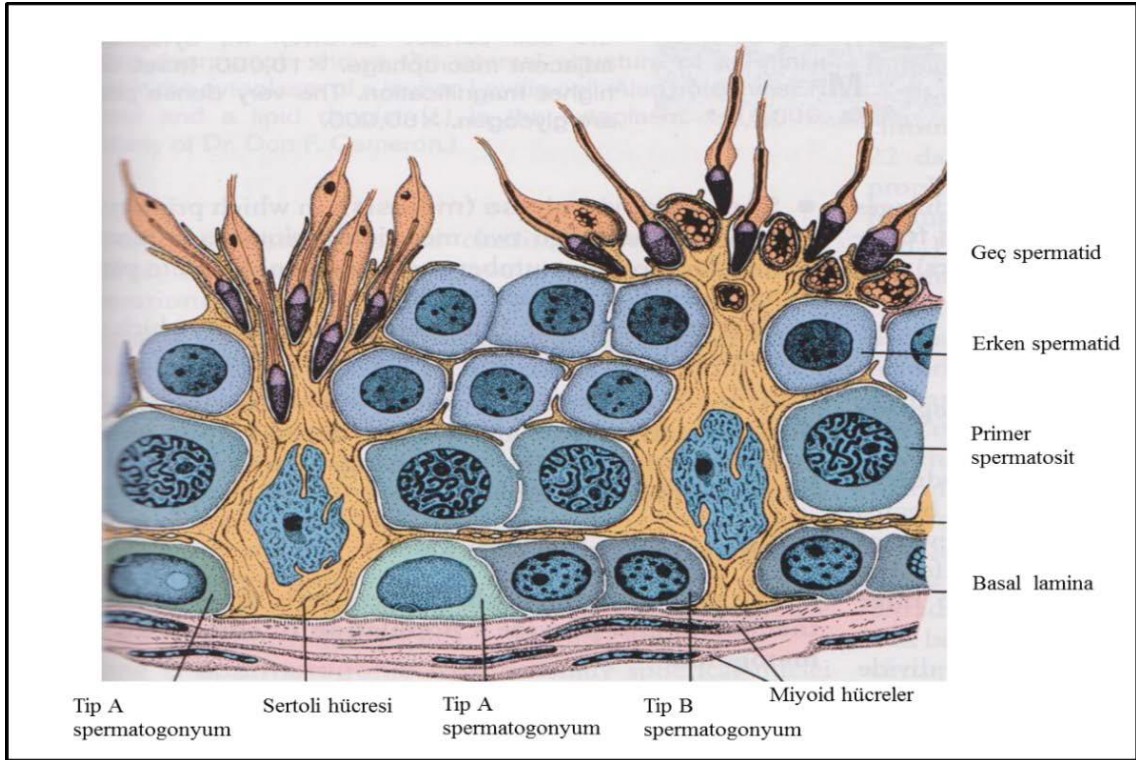
Seminifer tübüller fibröz bağ dokusundan oluşan bir kılıf, bazal lamina ve seminifer epitelden oluşur. Seminifer tübülü saran fibröz kılıf birkaç fibroblast katmanından meydana gelir.¹¹

2.3.2. Spermatogenez

Spermatozoon üretim süreci olan spermatogenez ilkel primitif germ hücresi olan spermatogonyum ile başlar.¹¹ İnsanlarda spermatogenez yaklaşık 9 haftada tamamlanır. Spermatogonyum 12 mikrometre çapında bazal laminanın hemen üzerinde yer alan küçük hücrelerdir. Spermatogonyumlardan mitoz bölünme ile spermatogenetik hücreler meydana gelir.¹¹

Spermatogonyumlar tip A ve tip B olmak üzere iki çeşittirler (Şekil 4). Heterokromatik nükleuslu tip A spermatogonyumların ana hücreleridir. Bir seri bölünmeden sonra tip A spermatogonyumlardan tip B spermatogonyumlar meydana gelir.¹²

Tip B spermatogonyumların mitoz bölünmesi sonucu pirimer spermatositler meydana gelir. Pirimer spermatositlerin birinci mayoz bölünmesi sonucu sekonder spermatositler meydana gelir. Bu bölünme ile pirimer spermatositin diploid kromozom sayısı haploid sayıya iner.¹¹ Kromozom sayılarındaki bu azalma sonucu her hücrenin DNA miktarında da azalma olmuş olur.¹¹ Sekonder spermatositlerin ikinci mayoz bölünmesi ile spermatidler oluşur. Bu hücreler haploid kromozom ve DNA yapısındadır.¹²



Şekil 4. Spermatogenez

2.3.3. Spermiyogenez

Spermiyogenez ile spermatidler farklılaşarak hareketli spermatozoonlara dönüşürler.¹¹ Spermatozoonlar, erkek DNA'sını ovuma aktarmak üzere özelleşmiş hücrelerdir. Spermatidler seminifer tübüllerin lümenine yerleşirler. Spermiyogenez, nükleus yoğunlaşması ve uzaması, akrozom oluşması, flagellum gelişmesi ve stoplazmanın çoğunun kaybolmasından oluşan içeren bir süreçtir. Üç aşamadan oluşur.¹¹

1) Golgi Evresi

Spermatit stoplazması, nükleusun yakınında yer alan belirgin bir golgi kompleksi, bir çift sentriyol, mitokondriler, serbest ribozomlar ve düz endoplazma retikulum tubüllerini içerir. Proakrozomal granüller olarak isimlendirilen küçük PAS pozitif granüller golgi kompleksinde birikir ve daha sonra birleşerek membranla sınırlı bir akrozomal vezikülün içinde yer alan tek bir akrozomal granülü oluştururlar. Sentriyoller göç ederek oluşan akrozomun karşı tarafında hücre yüzeyine yakın bir konuma gelirler. Flagellar aksonem oluşmaya başlar, sentriyoller yeniden nükleusa doğru göç ederken hareket ettikçe aksonemal bileşenleri çevresine sarar.¹¹

2) Akrozomal Evre

Akrozomal vezikül ve granül, yoğunlaşarak akrozomu oluşturur. Akrozom hiyalüronidaz, Nöraminidaz ve asit fosfataz gibi hidrolitik enzimler içerir. Spermatozoonlar bir oositle karşılaştığında, akrozomun dış membranı spermatozoonun plazma membranı ile birleşerek akrozomal enzimlerin hücre dışına doğru hareketlenmesini sağlar. Bu durum akrozomal reaksiyon olarak adlandırılır ve döllemenin ilk aşamalarından biridir. Bu fazda nükleus uzayarak daha yoğun bir hale gelir. Sentriyollerden bir tanesi gelişerek flagellumu meydana getirir.

Mitokondriler de flagellumun proksimal kısmı etrafında orta parça adı verilen kalınlaşmış bölgeyi meydana getirir, bu bölge spermatozoon hareketlerinin enerjisini sağlar.¹²

3) Maturasyon (olgunlaşma) Evresi

Geriye kalan sitoplazma kısmı sertoli hücreleri tarafından fagosite edilir ve spermatozoonlar tübülün lümenine sekrete edilir.¹²

2.3.4. İnterstisyel Doku

İnterstisyel bağ dokusu, seminifer tübüller arasında yer alan; kan damarlarından, lenfatiklerden ve sinirlerden zengin olan gevşek bir bağ dokusudur. Bu dokuda fibroblastlar, farklılaşmamış bağ dokusu hücreleri, mast hücreleri ve makrofajlar bulunur. Puberte ile birlikte leydig hücreleri de görülmeye başlar. Yuvarlak şekilli ve nükleuslu, asidofilik sitoplazmalı bu hücreler bağ dokusu içinde tek tek veya gruplar halinde dizilir. Hücreler sentezledikleri testosteron hormonunu, etraflarındaki kan damarları ve lenfatiklere boşaltarak endokrin sekresyon yaparlar.¹¹

Testis interstisyel dokusundaki kapillerler pencerelidir ve kan proteinleri gibi makromoleküllerin geçişine izin verir. Bağ dokusu çeşitli tipte hücreler içerir, bunlar arasında fibroblastlar, farklılaşmamış bağ dokusu hücreleri, mast hücreleri ve makrofajlar bulunur. Puberte ile birlikte yuvarlak ya da poligonal şekilli, merkezi bir nükleusu ve küçük lipid damlacıklarından zengin eozinofilik bir sitoplazması bulunan leydig hücreleri belirgin hale gelir. Bu hücreler sekonder seks karakterlerinin gelişmesinde etkili olan testosteron hormonunu üretirler. Testosteron sentezi mitokondrilerde ve düz endoplazmik retikulumda yapılmaktadır.¹²

2.3.5. Rete Testis

Tek katlı kübik epitel ile döşeli düzensiz dizilmiş kanallardır. Epitel hücreleri tek bir apikal silium ve birkaç mikrovillus içerir. Epitelin bazal membranı, mediastinumun bol kan damarlı bağ dokusu ile sarılmıştır.¹¹

Fibroblastlar ve myeloid hücreler tarafından oluşturulan duvar, leydig hücresi kümelerine eşlik eden kan damarları ve lenfatikler ile sarılmıştır.¹³

2.3.6. Efferent Kanallar

Rete testisi epididimise bağlayan tübüler yapılardır. Rete testis epididimisin baş kısmına, yaklaşık 12 adet olan kıvrımlı yapıdaki efferent duktuslar ile açılır. Kanalların iç yüzeyi yalancı çok katlı prizmatik epitel ile döşelidir. Hücre boylarının eşit olmaması, epitel yüzeyine girintili çıkıntılı bir görünüm kazandırır. Uzun boylu prizmatik hücreler genellikle siliyalıdır fakat kısa boylu hücreler siliya içermez. Bu hücreler çok sayıda mikrovillus ve pinositoz vezikülü içeren endositoz yapan hücrelerdir. Seminifer tübüllerden salgılanan sıvının büyük bir kısmı bu hücreler tarafından reabsorbe edilir. Epitelde lenfositler de görülebilir. Elastik lif içeren, ince bir sirküler kas tabakası, kanalı sarmaktadır. Spermin bu kanallar boyunca ilerlemesi siliyaların hareketi ve kas kontraksiyonu ile gerçekleşir.¹¹

2.3.7. Epididimal Kanal

Testisin arka yüzü boyunca seyreden, kıvrımlı, 4-6 metre uzunluğunda bir kanaldır. Baş, gövde ve kuyruk bölümlerinden oluşur.¹⁴ Baş, testisin üst kutbunda,

gövde ise arka kısmında yer alır. Epididim gövde ve kuyruğu kıvrımlı tek bir kanaldan oluşur.¹⁴ Kanalı, kan damarlarından ve düz kas hücrelerinden oluşan zengin ve sıkı bir bağ dokusu sarar. Yalancı çok katlı sterosilyalı prizmatik epitel, bazal hücreler ve prizmatik hücrelerden oluşur.

Epididimisin baş ve gövdesinde bağ dokusu dışında sirküler seyirli düz kaslardan oluşan ince bir tabaka daha yer alır. Kuyrukta bu tabakanın iç ve dış bölümünde longitudinal seyirli iki kas tabakası daha mevcuttur. Spermatozoa duktus epididimisten geçerken hareket ve dölleme yeteneği kazanır. Epitel hücreleri artık cisimleri ve dejenere olan spermleri fagosite ederek ortadan kaldırırlar. Esas hücreler sperm maturasyonu için gerekli olan sialik asit, gliserofosfokolin ve glikoproteinleri salgırlar.¹¹ Epididim sperm depolanması, olgunlaşması ve taşınması için çok önemli bir organdır.¹⁴

2.3.8. Defferent Kanal

Epididimisin kuyruğunun devamı olarak seyreden, kalın duvarlı kastan zengin bir kanaldır. Epididimis epiteline benzeyen, yalancı çok katlı prizmatik epitel ile döşelidir. Epitel hücrelerinin çoğunun yüzeyinde sterosilyalar mevcuttur. Elastik liflerden zengin bir lamina propriaya sahiptir. Musküler tabaka, içte ve dışta longitudinal, ortada sirküler seyreden kas liflerinden oluşur. Dışta damar ve sinirleri içeren konnektif doku kılıfı, ortada; iç ve dış longitudinal ve orta sirküler kaslardan oluşan kas tabakası ve içte sterosilya taşıyan mukoza hücrelerinden oluşmuştur.

Defferent kanal spermatik kordun bir parçasıdır. Kanal, prostata girmeden önce genişleyerek ampullayı oluşturur. Ampullanın son kısmında seminal veziküller kanala bağlanır. Bundan sonra deferent kanal prostata girer ve üretraya açılır. Prostata giren kısma ejakülatör kanal denir. Ejakülatör kanal 30-35 cm boyunda, 2-3 mm. çaplı bir kanaldır.¹⁴

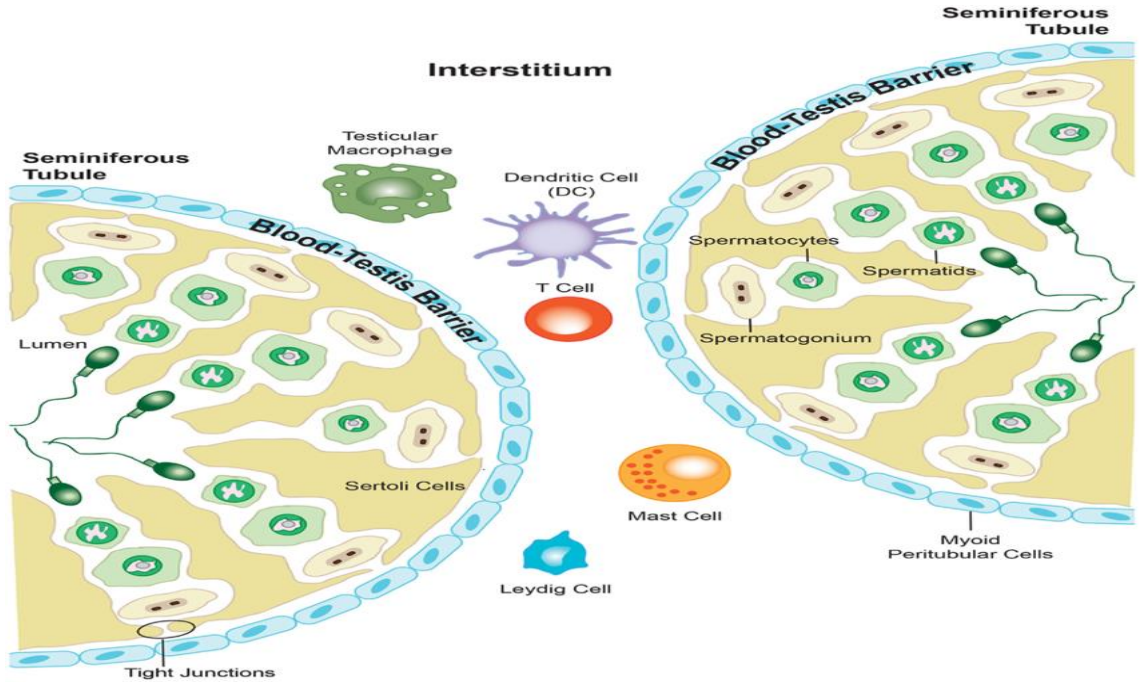
2.3.9. Ejekülatör Kanal

Basit prizmatik veya yalancı çok katlı prizmatik epitel ile döşelidir. Kas tabakası içermez, epitel fibröz bağ dokusu tabakası tarafından sarılmıştır.

2.4. Testiküler İnflamasyon ve İmmünoloji

2.4.1. Testisin İmmunolojik Komponentleri ve Kan-Testis Bariyeri

İnflamatuvar hücreler testiküler fonksiyonda önemli bir basamağı oluştururlar. Pro ve anti-inflamatuvar sitokinler testisin somatik hücreleri ve dolaşımında immün hücreler arasında etkileşimlerde bulunarak testisin normal fonksiyonu ve gelişimine katkıda bulunurlar.¹⁵ Bu sitokinler spermatogenez ve steroidogenez bozmadan inflamatuvar yanıtı oluştururlar. Immün hücreler (makrofajlar, mast hücreleri ve lenfositler) testislerde interstisyel ve peritübüler kompartmanda bulunurlar.¹⁶ Seminifer tübüllerin lümeninde çoğunluğu CD8+ T hücrelerden oluşan T lenfositler bulunur (normal testiste bulunmaz). Testislerde natürel killer (NK) hücreler bulunmaz. Normal testiste polimorfonükleer lökositlere rastlanmaz (Şekil 5).¹⁷



Şekil 5. Kan-testis bariyeri ve immün hücreler

2.4.1.1. Testisin İmmün Sistemden Korunması

İmmünolojik yeterlilik perinatal dönemde kazanılır ve bu dönemde vücuttaki tüm antijenler vücuda ait olarak tanınır. Bu dönemden sonra karşılaşılan antijenler yabancı olarak algılanıp bu antijenlere karşı immün yanıt oluşur. Vücut immün sisteminin maturasyonu erkek gametin üretim ve diferansiasyonundan önce tamamlanır. Germ

hücreleri, kan testis bariyeri sayesinde otoimmün saldırılardan korunur. Bu kısmi bir korunmadır.¹⁸

Germ hücrelerinin immün sistemden korunması hem fiziksel hem de immünolojik olmak üzere multifaktöryel ve karmaşık bir yapıya sahiptir. Puberte ile birlikte erkek germ hücrelerinden spermatozoa oluşumuna doğru aktif bir dönem başlar. Bu dönemde antijenik özelliği olan hücrelerarası ve yüzey proteinleri sentezlenir. Bu antijenik proteinler testiste immün reaksiyon oluşturmazlar.¹⁸ Testis interstisyumuna yerleştirilen yabancı dokular burda yaşamaya devam edebilirler. Aynı zamanda testis viral ve bakteriyel patojenlere karşı inflamatuvar yanıt oluşturur. Bu denge bozulunca testiküler immün cevap antisperm antikor (ASA) ve epididimoorşit oluşumuna neden olabilir.¹⁹ ASA'lar fertilizasyon aşamalarında sperm hareketleri ve fonksiyonları üzerinde olumsuz etkiler oluşturur.²⁰

Testisin immün ayrıcalık mekanizması halen net olarak aydınlatılabilmemiş değildir. Günümüzde immün sistem, spermatogenez, steroidogenez ve testiküler fonksiyonların karmaşık bir şekilde bağlantılı olduğu düşünülmektedir.

2.4.1.2. Testiküler İnflamasyonda Etyolojik Faktörler

Lokal veya sistemik enfeksiyon, neoplastik hastalıklar (seminoma, karsinoma-in-situ), kimyasal zararlılar, fiziksel faktörler, travma ve diğer testiküler hastalıklar (konjenital...) neden olabilir.

2.4.1.3. Testiküler İnflamasyonda Hormonal Düzenleme

Testosteron hormonu spermatogenezin başlaması ve devamı için çok önemli bir role sahiptir. Leydig hücreleri, Sertoli hücreleri ve peritübüler hücrelerdeki androjen reseptörleri üzerinden etkili olur.²¹ Peritübüler myoid hücreler androjenle regüle edilen faktörler sentezler. Testesteron'un pro-inflamatuvar sitokinleri azalttığına dair kanıtlar mevcuttur fakat bu anti-inflamatuvar etkiyi nasıl oluşturduğu net olarak aydınlatılabilmemiş değildir. Androjenlerin immüsupresif etkilerini genomik olmayan yollar üzerinden yada sertoli, leydig ve peritübüler hücrelerdeki pro- veya anti-inflamatuvar sitokin dengesini ayarlayarak sağladığı düşünülmektedir.²¹

2.4.1.4. Testiküler İnflamasyonda Sitokinlerin Etkisi

Akut testiküler inflamasyonda interlökin IL-1, IL-6 ve tümör nekroz faktör (TNF)-alfa regülasyonunun arttığı gösterilmiştir. Otoimmün orşit ve kronik testiküler inflamasyonda CCL2, CCL3 ve CCL4 gibi kemokinler testis interstisyumu içerisine immün hücrelerin geçişini arttırırlar. Bu hücreler, esas olarak proinflamatuvar sitokinlerin, başlangıçta interferon (IFN)-gammanın ve bundan sonra IL-6 ve TNF-alfa'nın salgılanması yoluyla normal immün baskılayıcı mikro ortamı değiştirirler. Bu değişiklikler sonucunda kan testis bariyerinin yapısı bozulur.²²

2.4.1.5. Testiküler İnflamasyonda Hücrelerin Etkisi

Makrofajlar: Testiküler immün ayrıcalık oluşmasında önemli role sahiptirler. Sertoli, leydig ve peritübüler hücreler gibi somatik hücreler ve immün hücreler birlikte germ hücrelerini otoimmün saldırılardan korurlar. Transforming growth faktör (TGF) ve aktivin A spesifik immün cevapları bastırmakta önemli rol oynar ve otoimmün reaksiyon riskini azaltarak immün ayrıcalık sağlarlar.²³

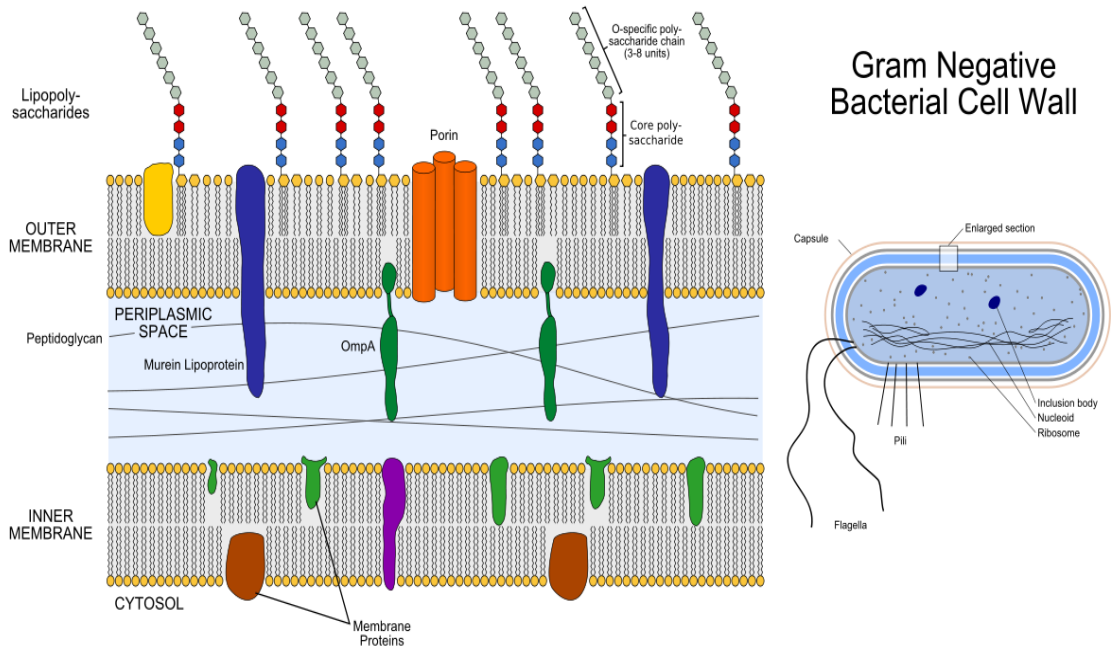
Lenfositler ve Dendritik hücreler: Lenfositler interferon (IFN) ve IL-2 gibi immün düzenleyici sitokinlerin kaynağıdır. Dendritik hücreler, T ve B lenfositlerin primer immün yanıtlarının düzenlenmesinde rol oynarlar. Dendritik hücreler hem lenfositleri aktive ederler hem de, T hücrelerinin antijenlere karşı toleransını artırarak otoagresif immün cevabı azaltırlar.²⁴

Mast Hücreleri: Allerjik ve immün cevaplardan sorumlu olan hücrelerdir. Testislerin interstisyel dokularında yerleşmişlerdir. Yenidoğan döneminde sayıları artarken çocukluk döneminde azalırken puberte döneminde tekrardan artmaktadır. Mast hücreleri salgıladıkları histamin, lökotrienler, prostaglandinler, sitokinler, triptaz ve diğer proteazlar ile testiküler inflamasyonda rol oynarlar.²⁵

2.4.2. Bakteriyel Lipopolisakkarid ile Oluşturulan Testiküler İnflamasyon

Bakteriyel lipopolisakarit (LPS), akut inflamasyonun testis fiziolojisi üzerindeki etkilerini incelemek için yaygın olarak kullanılan Gram negatif bakterilerin hücre duvarının bir bileşenidir (Şekil 6). LPS, etkilerini Toll benzeri reseptör 4 (TLR4) kompleksi üzerinden yapar. TLR4 rat makrofajları, sertoli ve leydig hücreleri tarafından

eksprese edilir. Ratlara LPS uygulaması spermatozoid ve spermatozoidlerin apoptozisi ile sonuçlanan inflamatuvar-oksidatif bir mikro-çevre oluşturur.²⁶ Testiküler makrofajlar ve Sertoli hücreleri pro-inflamatuvar sitokinler IL-6 ve IL-1 α salgılayarak, Leydig hücreleri TNF- α , IL-1 β ve TGF- β 1 salgılayarak LPS'ye yanıt verir;²⁷ bu sitokinler germ hücre apoptozisini (GHA) aktive eden TNFR1 ve IL - 6R'yi destekleyebilir, IL-1 α ve TGF- β 1 lokal inflamasyonu arttırarak kan-testis bariyerinin yapısını bozar.²⁸



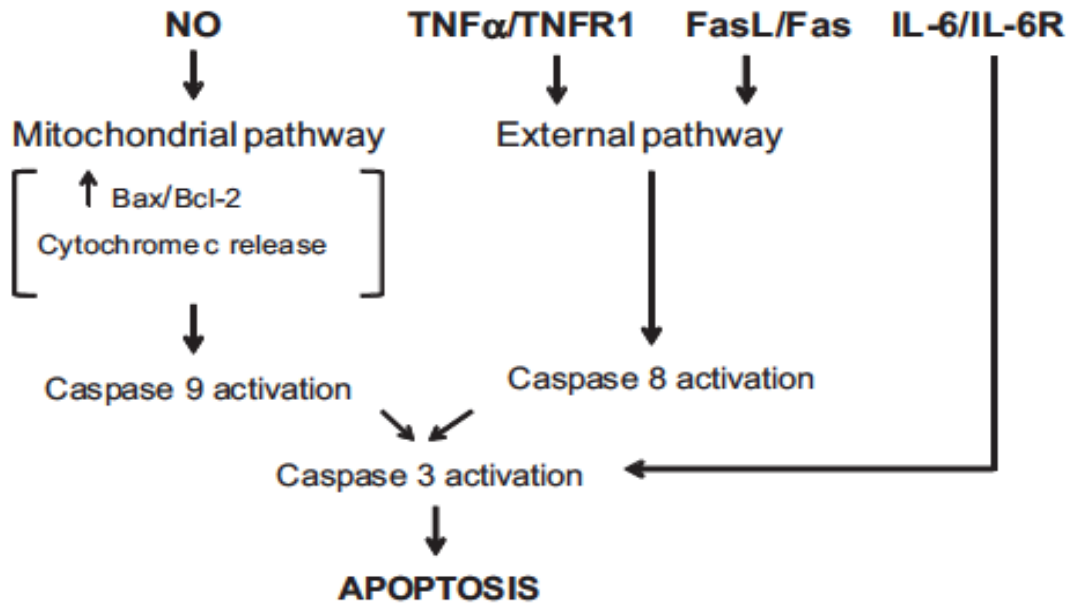
Şekil 6. Gram negatif bakteri duvarı ve LPS

Pro-inflamatuvar testiküler makrofajlar LPS uygulamasından 12 saat sonra geçici olarak yükselir ve 3.gün normale döner, bu süreçte GHA başlar ve 7 gün sürer.²⁹ Bu geçici asenkronizasyon ve testis makrofajlarında iNOS ekspresyon seviyelerinin sabit kalması ve aktivasyon belirteçlerinin olmaması, makrofajların LPS'ye apoptotik cevapta yer almadığını göstermektedir. Bunun aksine testiküler mikrohemoraji olan bölgelerde nötrofillerde GHA'ini indükleyen iNOS ekspresyonunun arttığı gösterilmiştir.²⁹

Ratlarda akut LPS uygulaması, spermatozoidlerin, spermatozoidlerin ve ayrıca spermatozoidlerin apoptozisini arttırarak epididimde sperm konsantrasyonlarında geçici bir düşüşe neden olur. GHA'ne Fas-FasL sistemi otokrin-parakrin şekilde aracılık eder.³⁰ IL-18 ratlarda LPS'ye yanıt olarak gelişen GHA'nin indüklenmesinde merkezi bir sitokin olarak görünmektedir. IL-18; Fas-FasL, TNF α -TNFR1 sistemi ve iNOS

ekspresyonunu arttırarak ölüm ve mitokondriyal yolları aktive eder. IL-18 aktive testiküler makrofajlar, sertoli ve leydig hücreleri tarafından eksprese edilir. IL-18 ile birlikte, IL-6 ve TNFa gibi pro-apoptotik etkiye sahip pro-inflamatuvar sitokinler, akut LPS uygulamasından sonra testiste üretilir. Bununla birlikte, genel apoptotik etki yalnızca IL-18'e bağlı olabilir, IL-18'in tükenmesi, GHA'ni tamamen önler.³¹ LPS'nin spermatozoid ve spermatozoid apoptozisi üzerine etkisi bu hücrelerin eksprese ettiği TNFR1, Fas ve IL-6R'ye bağlı olabilir; fakat spermatogonialarda LPS'nin apoptotik etkisi indirekt olarak ve muhtemelen sertoli hücreleri aracılığıyla olur. Bu bağlamda, LPS, sertoli hücrelerinin glial kaynaklı nörotrofik faktör sekresyonunu inhibe ederek spermatogoniaların kendini yenilemelerini azaltabilmektedir.³²

Seminifer epitelin normal fonksiyonlarının çoğu androjen desteğine bağlıdır. LPS, testis testosteronunu azaltır, ancak ratlarda normal seviyelerin % 30'unun altına düşmez,³⁰ yeterli bir spermatogenez için % 20 -% 30 testosteron seviyesine ihtiyaç duyulur.³³ Genel olarak, veriler LPS'nin makrofajlar, sertoli hücreleri ve leydig hücreleri tarafından üretilen NO, IL-1, IL-6, TNFa, FasL ve IL-18 gibi inflamatuvar faktörlerin aracılık ettiği germ hücreler üzerindeki pro-apoptotik bir etkisini göstermektedir (Şekil 7).³⁴



Şekil 7. GHA 'de mediyatörler ve yollar

2.4.3. NO, İNOS ve NFκB

NO, aktive makrofajlarda iNOS tarafından üretilir ve en önemli inflamatuvar mediyatörlerden biridir.³⁵ Fizyolojik olarak, iNOS aracılı NO üretimi ve peroksinitrit³⁶ gibi ilişkili reaktif radikaller doku yaralanması, septik şok ve apoptozis³⁷ dahil olmak üzere çeşitli zararlı tepkilere neden olur. Bu nedenle, iNOS ekspresyonunu baskılayarak NO üretiminin inhibisyonu, inflamatuvar hastalıkların tedavisinde önemli hedeflerden birini oluşturmaktadır. LPS uygulanmasından sonra çeşitli dokularda COX-2 ekspresyonu da bildirilmiştir.³⁸ Bu enzim prostaglandinlerin (PG) üretimini katalize ederek inflmasyonda önemli bir rol oynar. Bu nedenle COX-2 inhibisyonu anti-inflamatuvar tedavide önemli bir hedeftir.

İNOS'u kodlayan murin geninin promotör bölgesi, TATA kutusunun yukarı yönünde 55 ve 971 bp'de bulunan iki NF-κB bağlanma bölgesi içerir.³⁹ Potansiyel olarak ilgili transkripsiyon faktörünün, NFκB'nin κB bölgelerine bağlanmasının, LPS tarafından iNOS indüksiyonu için fonksiyonel olarak önemli olduğu gösterilmiştir. NF-κB transkripsiyon faktörleri ailesi, IL-1, IL-2, IL-6, IL-8 ve TNF-R gibi çeşitli inflamatuvar sitokinleri ve ayrıca COX-2 ve iNOS'u kodlayan genleri regüle eder. NF-κB, uyarılmamış hücrelerin sitoplazmasında, inhibitörü İκB'ye bağlı sessiz bir formda bulunur.⁴⁰ LPS gibi dış stimülatörler İκB'nin fosforilasyonunu tetikleyerek onun degradasyonuna ve transkripsiyonel düzenlemeler ile immün ve inflamatuvar genlerin promotör bölgesine bağlanması için NFκB'nin çekirdeğe eş zamanlı aktivasyon ve translokasyonuna yol açar. İNOS gen transkripsiyonunu regüle eden üç adet mitojenle aktive edilmiş protein kinaz (MAPK) (Hücre dışı sinyalle düzenlenmiş kinaz (ERK), p38 MAP kinaz (p38) ve c-Jun NH2-terminal kinaz (JNK)) tanımlanmıştır.⁴¹ Spesifik MAPK inhibitörleri, iNOS geninin ekspresyonunu baskılar.⁴²

2.4.4. Sitozolik fosfolipazA₂

Fosfolipaz A₂ (FLA₂) fosfolipidlerden araşidonik asid ve diğer yağ asitlerinin sentezlenmesinde görev alır. FLA₂ enzimleri, fosfolipid *sn*-2 ester bağının hidrolizini katalize ederek serbest yağ asidi ile lizofosfolipid yapılarını oluştururlar. FLA₂ enzimleri katalizör olarak kalsiyuma ihtiyaç duyan sekretuar FLA₂ (secretory phospholypase A₂, sPLA₂), kalsiyuma duyarlı sitozolik FLA₂ (cytosolic phospholypase A₂, cPLA₂), kalsiyumdan bağımsız olan intraselüler FLA₂ (intracellular phospholypase

A₂, iPLA₂) ve kalsiyumdan bağımsız lipid mediyatörü olan trombosit aktive edici faktör (TAF) ve okside fosfolipidleri hidroliz eden TAF asetilhidrolazlar olarak 4 gruba ayrılır.⁴³⁻⁴⁵

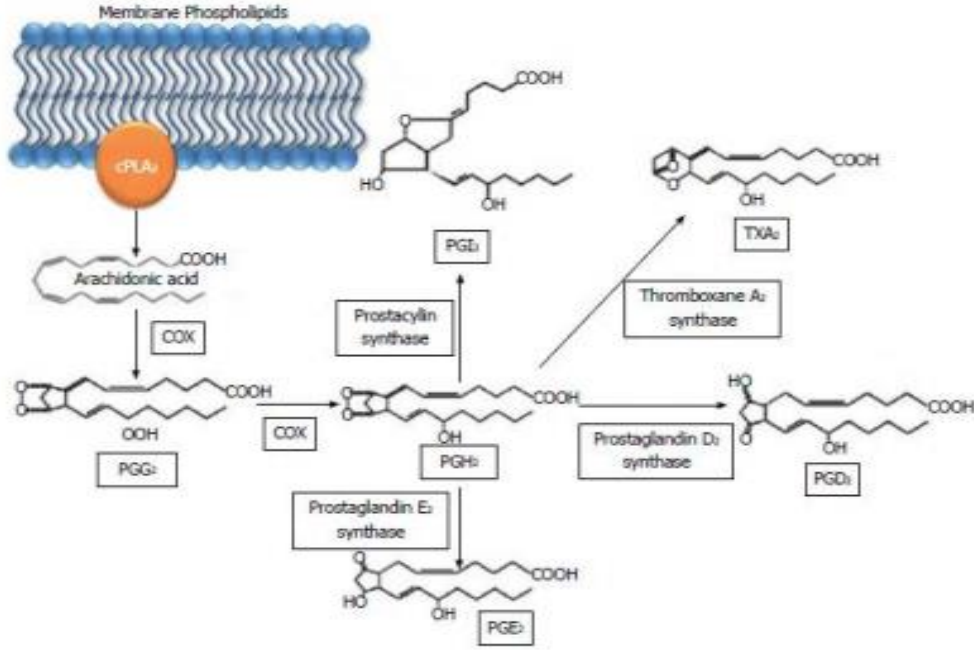
Sitozolik FLA₂'nin α , β ve γ olmak üzere üç izomeri bulunmaktadır.^{46,47} Araşidonik asit metabolizmasında esas olarak cFLA_{2 α} rol oynar. Trombositler, makrofajlar, nötrofiller, endotel hücreleri ve damar düz kas hücreleri gibi çok farklı hücreler tarafından sitozolik FLA₂ ekspresyonu olur. Büyüme faktörleri, mitojenler, vazoaktif peptitler, sitokinler, interferonlar gibi bazı ekstraselüler uyarılar sitozolik FLA₂'yi aktivasyonunu sağlarlar. Oksidasyon, hiperglisemi, ultraviyole ışığı ve sürtünme stresi gibi reseptör aracılıklı olmayan uyarılar da sitozolik FLA₂ aktivasyonunu başlatabilmektedir.⁴³ Makrofaj benzeri hücreler, hem TAF tarafından indüklenen çabuk yanıt, hem de LPS tarafından indüklenen gecikmiş cevap oluştururlar. TAF, FLA₂'nin hızlı aktivasyonuna neden olurken, LPS hücreleri esas olarak yeni protein efektörlerini sentezlemek yolu ile uyarı oluştururlar. Her iki durum sonucunda da, hücre içi sitozolik FLA_{2 α} enziminin translokasyonu ve aktivasyonu gerçekleşir.⁴⁸

Sitozolik FLA₂ enzimi, araşidonik asit içeren fosfolipidlerin esas olarak *sn*-2 konumundaki araşidonik aside karşı spesifik iken, diğer FLA₂ izoformlarında bu şekilde bir durum görülmez.^{44,49} Hücre sitozolünde bulunan sitozolik FLA₂, proinflamatuar uyarı sonucu oluşan MAPK aktivasyonu ve kalsiyum artışı ile birlikte aktive olmaktadır.⁵⁰ Hücre içi kalsiyum artması sonucunda, sitozolik FLA_{2 α} 'nin sitozolden siklooksijenaz (COX) ve 5-lipoksijenaz (5-LO) enzimlerinin bulunduğu endoplazmik retikulum ve nükleer membranlara transloke olur.

2.4.5. Siklooksijenaz (COX) Yolağı ve Siklooksijenaz-2

Araşidonik asit, hücre membranındaki fosfolipidlerin hidrolizi ile serbest hale geçen çoklu doymamış yağ asitidir. Farklı sebeplerle aktive olan fosfolipaz A₂ membran fosfolipitlerini hidrolize ederek araşidonik asitin oluşumunu sağlar. Araşidonik asit siklooksijenaz ve lipooksijenaz enzimleri ile sırasıyla prostanooidleri ve lökotrienleri (LT) meydana getirir (Şekil 8).⁵¹ Siklooksijenaz enziminin konstitütif ve indüklenbilir tip olmak üzere iki tipi mevcuttur. Yapısal siklooksijenaza COX-1, indüklenbilir siklooksijenaza ise COX-2 denilir. COX-1 ve COX-2 aynı reaksiyonları katalize ederler

fakat farklı yapı ve fonksiyonlara sahiplerdir.⁵² Amino asit diziliminde iki amino asit değişiminden dolayı bu iki enzim arasında yapı ve şekil farklılıkları mevcuttur.⁵²



Şekil 8. Siklooksijenaz yolu

Memeli canlılarda COX-1 ve COX-2 sırasıyla 576 ve 587 amino asitten oluşmaktadır. COX-1'ler endoplazmik retikulumun membranının yüzeyinde, COX-2 ise genellikle çekirdek membranında yerleşirler.⁵³

COX-1 dokularda genellikle koruyucu etki gösterir. Trombosit agregasyonu ve homeostazis gibi fizyolojik koruyucu fonksiyonları düzenlerken, COX-2 enzimi ise bunların tersi yönünde etkiler yapar. COX-2 izoformu sağlıklı insanlarda bulunmaz. Sitokinler, tümör nekroz faktörler, büyüme faktörleri, bakteriyel endotoksinler gibi proinflamatuvar ajanlar COX-2'nin ekspresyonuna yol açarlar. COX-2 ürünü PG'ler inflamatuvar reaksiyonlarda büyük rol oynarlar ve kızarıklık, ateş, şişlik, ağrı ve fonksiyon kaybı gibi inflamasyonun majör semptomlardan sorumludurlar.⁵⁴ Bazı kanser türlerinde de COX-2'nin indüklendiği ve oluşturduğu PG'lerle hücre apoptozunu engelleyerek kanser hücresi proliferasyonunu sağladığı gösterilmiştir. Ayrıca, Alzheimer ve Parkinson hastalarının beyinlerindeki plaklarda da COX-2'nin indüklendiği gösterilmiştir.⁵⁵

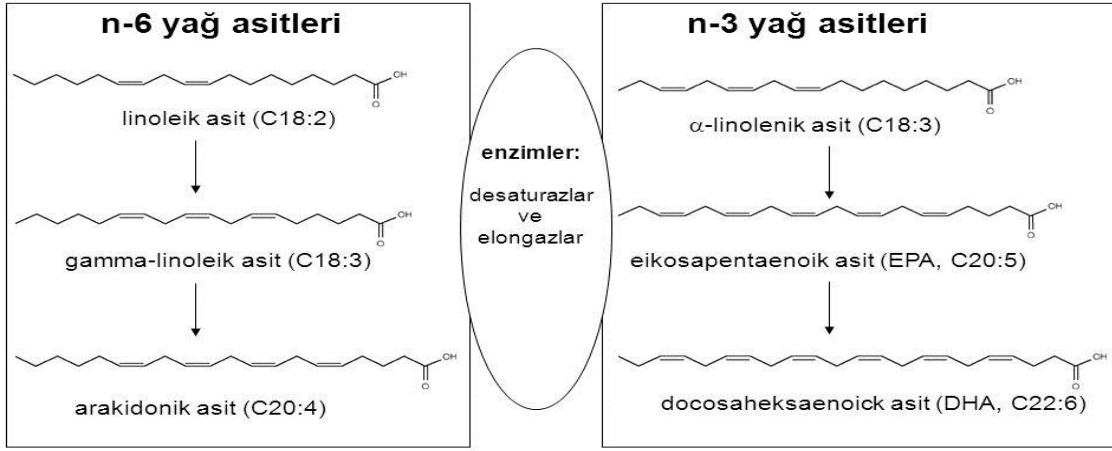
Gastrointestinal mukozanın bütünlüğünden ve renal fonksiyondan sorumlu PG'ler sadece COX-1 yoluyla üretilirken, inflamatuvar yanıtla neden olan PG'ler ise sadece COX-2 yoluyla üretilir. COX-2, hem doğal hem de patofizyolojik (karaciğer sirozu, renal yetmezlik ve konjestif kalp yetmezliği) durumlarda renal fonksiyonun (perfüzyon, sıvı kullanımı, renin yapımı) önemli bir kısmının düzenlenmesinde rol oynar.⁵⁶

2.5. Esansiyel Yağ Asitleri

Oda sıcaklığında çift bağ içermeyen yağ asitleri katı halde bulunurken çift bağ içeren yağ asitleri ise sıvı haldedirler. Çift bağ taşıyan yağ asitleri taşıdığı bağ sayısına göre monoansatüre ve poliansatüre yağ asitleri (PUFA) olarak adlandırılırlar. Balık yağındaki PUFA'lar grubunda 5'ten fazla çift bağ içeren PUFA'lar, yüksek doymamış yağ asitleri (HUFA) olarak isimlendirilirler. İnsanlara en çok faydası olan HUFA'lar eikosapentaenoik asit (EPA) ve dekoheksaenoik asit (DHA)'dır. Mısır ve soyada omega 6 yağ asidi olarak bilinen linoleik asit bol miktarda bulunur. Ketentohumu, ceviz ve planktonlar ile balıklarda omega 3 olarak bilinen linolenik asit ise bol miktarda bulunur.

Kara bitkiler genellikle omega 6 yağ asitleri üretirken su bitkileri (mavi-yeşil algler ve soğuk suda yaşayan bitkiler) ise omega 3 yağ asidi üretirler. Birçok besin α -linolenik asit içermekte, ancak Omega 3 PUFA'ların insanlar için temel kaynağı balıklardır.⁵⁷

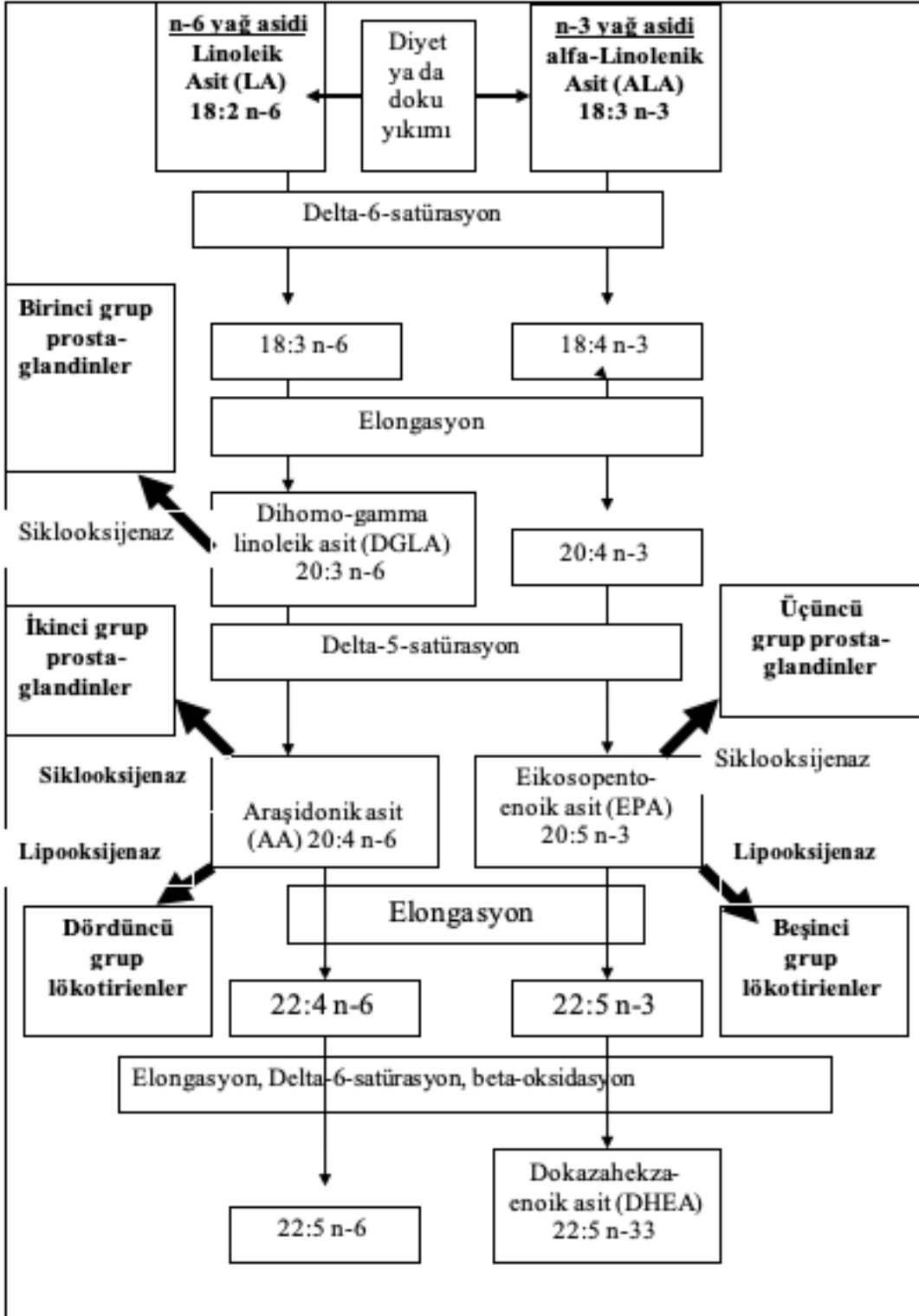
Linoleik, linolenik ve araşidonik asit esansiyel yağ asitleridir ve hayvanlar tarafından sentez edilemedikleri için bunlar mutlaka dışarıdan alınmalıdırlar (Şekil 9).⁵⁸ Bitki tohumlarının yağlarında linoleik asit, balık yağında ise linolenik asit bol miktarda bulunur. Linoleik asitten karbon zincirinin uzaması (elengasyon) ve çift bağ sayısının artması (desaturasyon) sonucu araşidonik asit meydana gelir.⁵⁹ Esansiyel yağ asitleri vücutta doymamış yağ asitlerine dönüşmekte, bunlar da önce ekosanoid isimli 20 karbonlu yağ asidine dönüştürülmekte, sonra da prostanooid denilen prostaglandinler, tromboksanlar ve lökotrienler sentezlenmektedir.



Şekil 9. Omega 3 ve 6 yağ asitleri

Prostanoidler hormon benzeri bileşikler olup, hücrelerde membran geçirgenliği ile enzim ve reseptör aktivitesini etkilerler.

Alfa-linolenik asit (ALA) desaturaz ve elongaz enzimler vasıtasıyla EPA ve DHA gibi diğer yağ asitlerine dönüşür (Şekil 10).⁶⁰



Şekil 10. Yağ asiti metabolizması

Omega 3 (alfa-linolenik asit), Omega 6 (linoleik asit) ve Omega 9 (oleik asit)'dan oluşan omega yağ asitleri beyin gelişimi, immün sistemin güçlenmesi, koroner kalp hastalıklarının önlenmesinde önemli rolleri vardır. Bu yağ asitlerinin eksik olduğu

durumlarda insanlarda bazı deri hastalıkları, astım, diyabet, artrit, büyümede gerileme, kanser ve öğrenme güçlüğü görülmektedir.⁶¹ Ayrıca omega 3 yağ asidi ile zengin diyetin kalp-damar hastalıkları, hipertansiyon, nörolojik bozukluklar ile birlikte immün sistemin gelişmesinde rol aldığı gösterilmiştir.

Alfa-linolenik asit kalp ve kardiyovasküler sistemi koruyucu bir besindir.^{62,63} Alfa-linolenik asit diyeti başlanan spontan hipertansif sıçanlarda takiplerde kan basıncının düştüğü gösterilmiştir.⁶⁴ Alfa linolenik asit antioksidan etkinlik gösterir ve inflamasyonun önlenmesine de katkı sağlar.⁶⁵ Alfa-linolenik asit LPS'in neden olduğu inflamasyonu da azaltır. Alfa-linolenik asit ayrıca NF-κB translokasyonunu ve MAPK'in fosforilasyonunu inhibe ederek iNOS, COX-2, TNF-alfa gibi inflamatuvar faktörlerinin ekspresyonlarını azaltır.⁶⁶

Omega-3 yağ asitleri prostaglandinlerin sentez aşamalarında rol alır. Prostaglandinler vücut sıcaklığı, inflamasyon, ağrı, dolaşım sistemi, boşaltım sistemi ve sindirim sisteminin düzenlenmesi, koagülasyon düzenlenmesi ve bazı hormonların sentezlenmesi için çok önemlidir.^{67,68}

Omega-6 metabolizmasının omega-3 ten daha hızlı olduğu bilinmektedir. Bu sebeple vücuttaki omega-6 ve omega-3 yağ asitlerinin birbirine oranının ideal seviyede olması çok önemlidir. Diyetle alınan esansiyel yağ asitleri için istenilen omega 6/omega 3 oranı 5:1 ile 10:1 arasında olmalıdır. Yapılan araştırmalarda omega-3 yağ asitleri bakımından zengin diyetlerle beslenen Eskimoların omega-6 yağ asitleri bakımından zengin diyetle beslenen Danimarkalılara göre kan plazmasında düşük dansiteli lipoprotein (LDL) ve çok düşük dansiteli lipoprotein (VLDL) düzeylerinin daha düşük, yüksek dansiteli lipoprotein (HDL) düzeylerinin ise daha yüksek olduğu gösterilmiştir.^{69,70}

3. GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışma Ç.Ü. Tıbbi Bilimler Deneysel Araştırma ve Uygulama Merkezi (TIBDAM)'den etik kurul izni alınarak yapılmıştır (26.02.2016 tarihli, toplantı sayısı 2, 16 numaralı etik kurul kararı).

Deneysel Ç.Ü. Tıbbi Bilimler Deneysel Araştırma ve Uygulama Merkezi (TIBDAM)'dan sağlanan 8 haftalık balb/c albino türü erkek fareler kullanıldı.

Fareler 3 deney grubuna ayrıldı.

1. Kontrol (n=10)
2. Orşit (10mg/kg LPS; intraperitoneal) (n=10)
3. Orşit + alfa-linolenik asit (200mg/kg/gün; gavaj) (n=10)

Orşit grubuna 10 mg/kg tek doz intraperitoneal LPS uygulaması yapıldı. LPS ile birlikte ALA uygulanan gruba 10 mg/kg tek doz intraperitoneal LPS uygulaması ve gavaj ile 200 mg/kg ALA uygulandı. ALA orşit oluşturulmadan üç gün önce verilmeye başlandı. Kontrol grubuna da aynı deneysel koşullar sağlandı ve intraperitoneal fizyolojik serum uygulandı. Yukarıda açıklanan protokol eşliğinde ve LPS uygulandıktan 24 saat sonra fareler servikal dislokasyon ile öldürüldü. Farelerin testisleri kantitatif tayin deneylerinde kullanılmak üzere -20°C'de sıvı azot ile dondurularak eppendorf içinde saklandı.

3.1. ELISA Deneyleri

ELISA testleri Rayto firmasından temin edilen ELISA mikroplate okuyucu ve yıkayıcı ile yapılmıştır.

3.1.1. Doku Homojenizasyonu

Eppendorf içinde -20°C dondurulmuş dokuların üzerine gram başına 3ml RIPA (Radio-Immunoprecipitation Assay) buffer, 30µl PMSF (fenylmetanesulfonylfluoride), 30µl sodyum vanadat, 30µl proteaz inhibitörü eklendi ve ultrasonic parçalama cihazıyla buz üzerinde dokuların parçalanarak homojenatlar elde edildi. Homojenatlar 10.000 RPM'de 10 dakika santrifüj edildi. Altaki çökeltiler (pelletler) atıldı. Üstte ayrılan kısımlar (süpernatantlar) ELISA testlerinde kullanılmak üzere alındı.

3.1.2. Protein Miktar Tayini

Homojenizasyon yapılarak elde edilen homjenatların total protein miktarının tayini için Bradford yöntemi kullanıldı.

Sığır serum albumini (1µg/ml) kullanılarak 1, 2, 3, 5, 7, 8, 10 (µg/ml) konsantrasyonlarda standart hazırlandı. Her bir örnekten 10 µl alınarak distile su ile 100 µl'ye tamamlandı. Standart ve örneklerin üzerine 1ml bradford solüsyonu eklendi ve vorteksle karıştırıldıktan sonra spektrofotometrede 595 nanometre dalga boyunda absorbans miktarları manuel olarak ölçüldü. Prism programında çizilen standart eğriye göre homojenatların protein miktar tayini µg/µl cinsinden yapıldı.

3.1.3. ELİSA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) Testi

3.1.3.1. ELİSA Siklooksijenaz 2 Enzim Miktar Tayini

Homojenatlardan 100'er µl eliza kuyucuklarına eklendi. Kuyucukların üstü aliminyum folyo ile kapatılıp 2 saat 37°C'de inkübe edildikten sonra kuyucuklardaki sıvı boşaltılıp üzerine 100 µl reaktif A solüsyonu eklenip 1 saat 37°C'de inkübe edildi. İnkübasyonun sonunda kuyucuklar 3 kez yıkama tamponuyla yıkanıp yıkama sonunda kuyucuklara 100 µl reaktif B solüsyonu eklenip 1 saat 37°C'de inkübe edildikten sonra 5 kez yıkama tamponuyla yıkanarak içerisine 90 µl substrat solüsyonu eklenip üstü kapatılarak 30 dakika inkübe edildi. Sonra 50 µl stop solüsyonu eklenip 450 nm'de mikroplate okuyucuda kuyucukların optik dansiteleri belirlenerek COX-2 enziminin miktarları tayin edildi.

3.1.3.2. ELİSA Fosfolipaz A₂ Enzim Miktar Tayini

Homojenatlardan 100'er µl eliza kuyucuklarına eklendi. Kuyucukların üstü aliminyum folyo ile kapatılıp 2 saat 37°C'de inkübe edildikten sonra kuyucuklardaki sıvı boşaltılıp üzerine 100 µl reaktif A solüsyonu eklenip 1 saat 37°C'de inkübe edildi. İnkübasyonun sonunda kuyucuklar 3 kez yıkama tamponuyla yıkanıp yıkama sonunda kuyucuklara 100 µl reaktif B solüsyonu eklenip 1 saat 37°C'de inkübe edildikten sonra 5 kez yıkama tamponuyla yıkanarak içerisine 90 µl substrat solüsyonu eklenip üstü kapatılarak 30 dakika inkübe edildi. Sonra 50 µl stop solüsyonu eklenip 450 nm'de

mikroplate okuyucuda kuyucukların optik dansiteleri belirlenerek fosfolipaz A₂ enziminin miktarları tayin edildi.

3.1.3.3. ELİSA İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz Enzim Miktar Tayini

Homojenatlardan 100'er µl eliza kuyucuklarına eklendi. Kuyucukların üstü aliminyum folyo ile kapatılıp 2 saat 37°C'de inkübe edildikten sonra kuyucuklardaki sıvı boşaltılıp üzerine 100 µl reaktif A solüsyonu eklenip 1 saat 37°C'de inkübe edildi. İnkübasyonun sonunda kuyucuklar 3 kez yıkama tamponuyla yıkanıp yıkama sonunda kuyucuklara 100 µl reaktif B solüsyonu eklenip 1 saat 37°C'de inkübe edildikten sonra 5 kez yıkama tamponuyla yıkanarak içerisine 90 µl substrat solüsyonu eklenip üstü kapatılarak 30 dakika inkübe edildi. Sonra 50 µl stop solüsyonu eklenip 450 nm'de mikroplate okuyucuda kuyucukların optik dansiteleri belirlenerek indüklenebilir nitrikoksit sentaz enziminin miktarları tayin edildi.

3.1.3.4. IL-6 ve TNFα Miktar Tayini

Her farenden yaklaşık 0,5 ml kan örnekleri alındı ve serum elde etmek için 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. IL-6 ve TNFα (Shanghai Sunred Biological Technology Co., Ltd) 'nin serum seviyeleri, üreticinin talimatlarına göre ELISA testi kitleri kullanılarak ölçüldü.

3.2. Sonuçların değerlendirilmesi

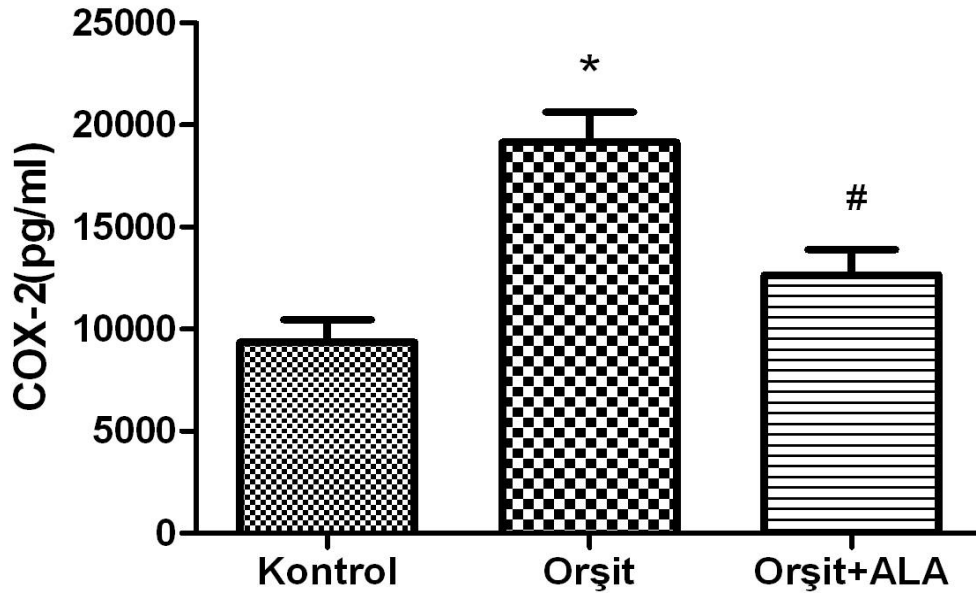
Enzim ve sitokin düzeyleri ortalama ve standart sapmaları ile birlikte (\pm SD) belirtildi. Grafiklerin çizimi ve istatistiksel analiz için Graph-Pad Prism (CA, USA) programı kullanıldı. Gruplar arası istatistiksel karşılaştırma yapmak için tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve *post hoc* doğrulama testi olarak Bonferoni yöntemi kullanıldı. 0.05'den küçük P değerleri anlamlı olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. ELISA Deneyleri

4.1.1. Siklooksijenaz-2 Enzim Düzeyleri

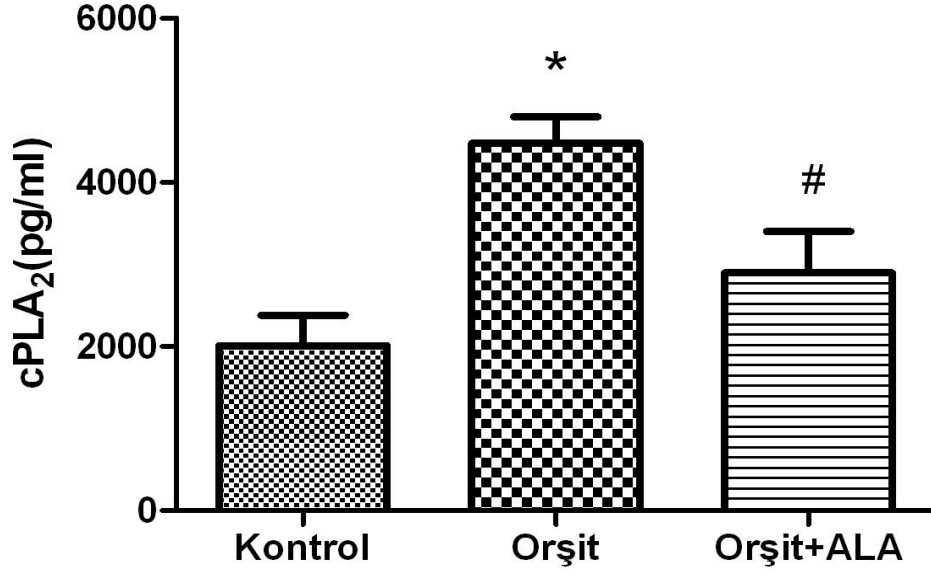
Farelerde LPS uygulaması testis dokusunda siklooksijenaz-2 enzim artışına neden olurken (19155 ± 3915 pg/ml) ALA uygulaması bu artışı anlamlı olarak azalttı (12653 ± 3322 pg/ml) (Şekil 11).



Şekil 11. LPS uygulanan farelerin testislerindeki siklooksijenaz-2 enzimine ALA 'in etkisi (n=10) İstatistiksel analiz: ANOVA. Post hoc: Bonferroni. (*: Kontrole göre $P < 0.05$. #: LPS 'e göre $P < 0.05$).

4.1.2. sFLA₂ Enzim Düzeyleri

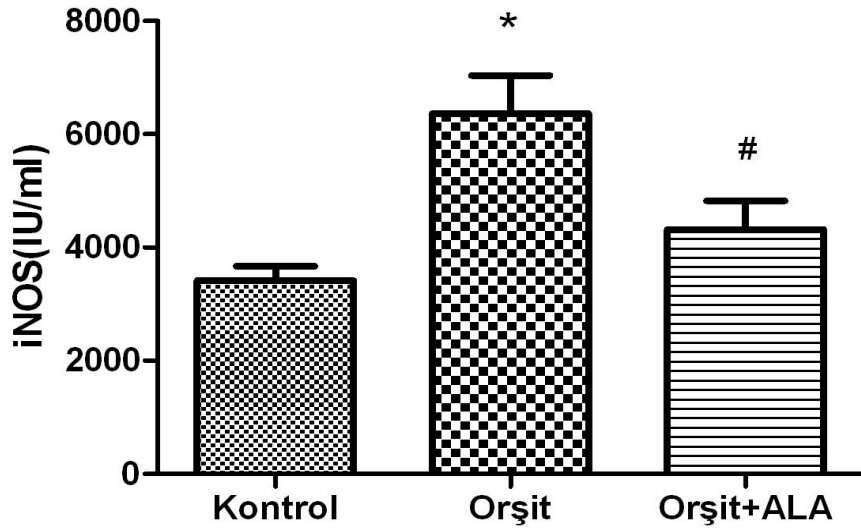
Farelerde LPS uygulaması testis dokusunda sFLA₂ enziminin artışına neden olurken ($4477 \pm 791,0$ pg/ml) ALA uygulaması bu artışı anlamlı olarak azalttı (2896 ± 1243 pg/ml) (Şekil 12).



Şekil 12. LPS uygulanan farelerin testislerindeki fosfolipaz A₂ enzimine ALA 'in etkisi (n=10). İstatistiksel analiz: ANOVA. Post hoc: Bonferroni. (* : Kontrolle göre P<0.05. # : LPS 'e göre P<0.05).

4.1.3. iNOS Enzim Düzeyleri

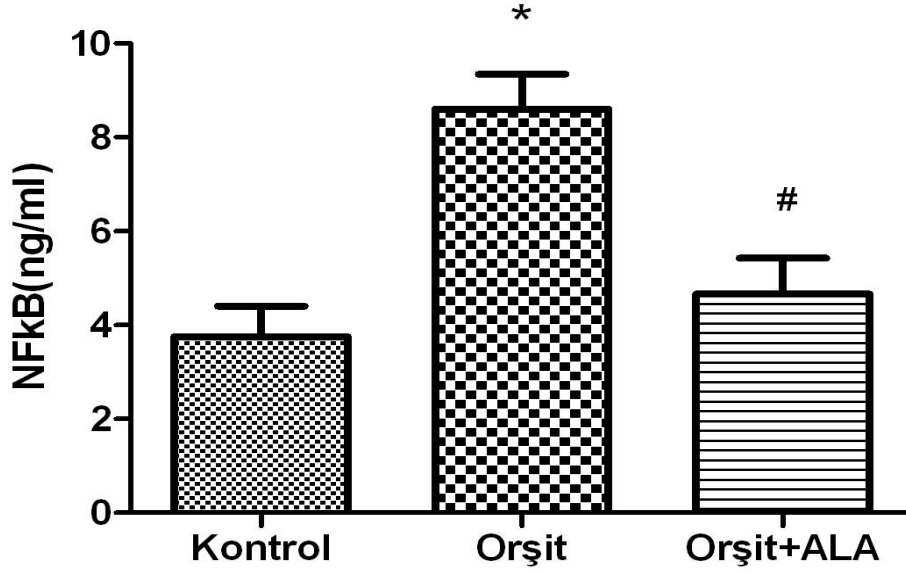
Farelerde LPS uygulaması testis dokusunda iNOS enziminin artışına neden olurken (6363±1782 IU/ml) ALA uygulaması bu artışı anlamlı olarak azalttı (4315±1247 IU/ml) (Şekil 13).



Şekil 13. LPS uygulanan farelerin testislerindeki iNOS enzimine ALA 'in etkisi (n=10). İstatistiksel analiz: ANOVA. Post hoc: Bonferroni. (* : Kontrolle göre P<0.05. # : LPS 'e göre P<0.05).

4.1.4. NFκB Düzeyleri

Farelerde LPS uygulaması testis dokusunda NFκB artışına neden olurken (8,600±1,963 ng/ml) ALA uygulaması bu artışı anlamlı olarak azalttı (4,667±1,862 ng/ml) (Şekil 14).



Şekil 14. LPS uygulanan farelerin testislerindeki NFκB düzeyine ALA'nın etkisi (n=10)
İstatistiksel analiz: ANOVA. Post hoc: Bonferroni. (* : Kontrole göre P<0.05. #: LPS'e göre P<0.05).

Tablo 1. ALA'nın orşit kaynaklı inflamatuvar enzim ve mediyatör düzeylerine etkisi

Enzim ve Mediyatörler	Kontrol ±SD	Orşit ±SD	Orşit + ALA ±SD
COX-2 (pg/ml)	9356±2733	19155±3915*	12653±3322#
sFLA ₂ (pg/ml)	2012±911,0	4477±791,0*	2896±1243#
iNOS (IU/ml)	3417±622,4	6363±1782*	4315±1247#
NFκB (ng/ml)	3,750±1,597	8,600±1,963*	4,667±1,862#

İstatistiksel analiz: ANOVA. Post hoc: Bonferroni. (* : Kontrole göre P<0.05. #: LPS'e göre P<0.05).

4.1.5. IL-6 Düzeyi

Farelerde LPS uygulaması IL-6 (128,2±5,3) düzeylerinde artışına neden olurken ALA uygulaması bu artışları anlamlı olarak azalttı (109,9±2,1; p<0,05) (Tablo 2).

4.1.6. TNFα Düzeyi

Farelerde LPS uygulaması TNFα (105±4,9) düzeylerinde artışına neden olurken ALA uygulaması bu artışları anlamlı olarak azalttı (72,5±3,5; p<0,05) (Tablo 2).

Tablo 2. ALA'in orşit kaynaklı IL-6 ve TNF α düzeylerine etkisi

Gruplar	IL-6	TNFα
Kontrol \pm SD	95 \pm 3,2	41,35 \pm 1,8
Orşit \pm SD	128,2 \pm 5,3*	105 \pm 4,9*
Orşit + ALA \pm SD	109,9 \pm 2,1 [#]	72,5 \pm 3,5 [#]

İstatistiksel analiz: ANOVA. Post hoc: Bonferroni. (* : Kontrole göre P<0.05. #: LPS'e göre P<0.05).

5. TARTIŞMA

Yapmış olduğumuz deneysel çalışmamızda inflamatuvar yanıtta önemli rolleri olan COX-2, sFLA₂, iNOS, NFκB, IL-6 ve TNFα değerlendirildi. LPS uygulaması, bu mediyatörlerin ekspresyonunu arttırırken, ALA'in bu mediyatörlerin ekspresyonunu azalttığı tespit edildi.

LPS'nin, mononükleer fagositlerde ve nötrofillerde spesifik membran reseptörlerine bağlanarak bir dizi sinyal iletim yollarını uyardığı bilinmektedir. Bu sinyal iletim yollarının uyarılması, inflamatuvar mediyatörlerin salgılanmasına ve inflamasyona yol açar. LPS, CD14 adezyon molekülleri, LPS membran bağlayıcı protein reseptörü, LPS reseptörü ve CD18 glikoprotein adezyon reseptörü kompleksi ile reaksiyona girer. Bu reseptörler makrofajlarda, mononükleer lökositlerde ve nötrofillerde de bulunur. Salgılanan inflamatuvar mediyatörler TNFα, IL-1, prostaglandinler, lökotrienler ve trombosit aktive edici faktördür. Bu mediyatörler ya doğrudan lökositleri infiltre ederek ve vasküler geçirgenliği artırarak veya dolaylı olarak diğer moleküller ile etkileşime girerek inflamatuvar reaksiyonları indüklerler.⁷¹

Testiküler makrofajlar ve Sertoli hücreleri pro-inflamatuvar sitokinler IL-6 ve IL-1α salgılayarak, Leydig hücreleri TNF-α, IL-1β ve TGF-β1 salgılayarak LPS'ye yanıt verir;²⁷ bu sitokinler GHA'ni aktive eden TNFR1 ve IL - 6R'yi destekleyebilir, IL-1α ve TGF-β1 lokal inflamasyonu arttırarak kan-testis bariyerinin yapısını bozar.²⁸ Çalışmamızda da LPS uygulanmasından sonra bu mediyatörlerden IL-6 ve TNF-α ekspresyonunun arttığını tespit ettik.

ALA'in kardiyovasküler sistem için koruyucu bir ajan olduğu ve bu sistemle ilişkili hastalıklardan kaynaklanan ölümleri azalttığı bilinmektedir.⁷² Çalışmalar ALA'in anti-inflamatuvar özellikler dahil olmak üzere birçok faktörle koruyucu bir etkisi olduğunu göstermiştir.

Diyetle yeterli miktarda alınan uzun zincirli omega-3 PUFA'lar, inflamatuvar eikosanoidlerin, sitokinlerin ve reaktif oksijen türlerinin üretimini ve adezyon moleküllerinin ekspresyonunu azaltır. Uzun zincirli omega-3 PUFA'ların hem doğrudan (örneğin, araşidonik asiti bir eikosanoid substrat olarak değiştirerek ve araşidonik asit metabolizmasını önleyerek) hem de dolaylı olarak (örneğin transkripsiyon faktör aktivasyonu üzerindeki etkilerle inflamatuvar genlerin ekspresyonunu değiştirerek) etki

ettiği bilinmektedir. ALA'nın in vivo anti-inflamatuvar aktivitesi, iki farklı hayvan modeli kullanılarak, farelerde carrageenan tarafından indüklenen ödem ve farelerde asetik aside bağlı vasküler geçirgenliğin artması ile ilgili çalışmalar da bildirilmiştir.^{73,74} Son zamanlarda, Munsterman ve ark. ayrıca, ALA'nın, LPS ile at eksplantları üzerinde oluşturulan sinovit üzerindeki anti-inflamatuvar etkisini gösterdi.⁷⁵

iNOS geninin promotörünün bir geliştirici ve bir bazal destekleyici olmak üzere iki transkripsiyonel bölge içerdiği bilinmektedir.⁷⁶ Hem geliştirici hem de bazal promotörde bulunan κ B alanları ve LPS aracılı NO üretimi için gerekli olan NF- κ B dahil olmak üzere transkripsiyon faktörleri için bir dizi bağlanma bölgesi vardır.³⁹ Uyarılmamış hücrelerde, NF- κ B, sitozolde bir homodimer veya heterodimer olarak bulunur ve I κ B proteinine bağlanır. NF- κ B aktivasyonu, I κ B proteinlerinin fosforilasyonu, çoğalması ve proteazom aracılı degradasyonu, ardından NF- κ B'nin DNA bağlanması ve nükleer translokasyonu ile sonuçlanır.⁷⁷ Sonuçlarımız ALA'nın NF- κ B'nin LPS kaynaklı DNA aktivasyonunu inhibe ettiğini düşündürmektedir.

MAPK'lar (ERK, JNK, and p38 MAPK) özellikle sitokinlere ve strese cevap olarak hücre büyümesini ve farklılaşmasını düzenlemede çok önemli bir rol oynarlar.⁷⁸ Bazı çalışmalar, LPS'nin neden olduğu iNOS ekspresyonunda ve NF- κ B'nin aktivasyonunda MAPK'ları incelemiştir.⁷⁸ Hücre stimülasyonu, hem tirozin hem de treonin fosforilasyonu yoluyla MAPK'lerin aktivasyonuna yol açan bir sinyal kaskadını indükler, bu da aktif bölgeyi substrata bağlanmaya maruz bırakan bir konformasyonel değişikliğe neden olur.⁷⁹ ALA'nın ERK, JNK ve p38'in LPS kaynaklı fosforilasyonu üzerindeki etkileri, ALA'nın aktivatör protein-1 (AP-1) aktivasyonunu etkilediğini doğrulamak için değerlendirildi. ALA tedavisi, LPS'ye yanıt olarak oluşan ERK, JNK ve p38 fosforilasyon seviyelerini düşürdü. Bu, ERK, p38, JNK, NF- κ B ve AP-1'in ALA'nın iNOS indüksiyonu üzerindeki baskılayıcı etkisinden sorumlu olabileceği görüşünü desteklemektedir.⁶⁶

Önceki çalışmalar ALA'in iNOS enzim düzeyini azalttığını göstermiştir.⁶⁵ ALA'in uygulanması, LPS ile indüklenen iNOS enzim ekspresyon miktarını azaltmıştır. Nitrik Oksit (NO), iNOS tarafından üretilir ve inflamatuvar hastalıklarda patojenik bir role sahiptir.^{71,80-82}

ALA'nın LPS nedeniyle oluşan COX-2 enziminin artışını azalttığı gösterilmiştir.^{66,83} Çalışmamızda da ALA'nın LPS nedeniyle oluşan COX-2 enziminin

artışını azalttığını gördük. LPS uygulamasının, bu çalışmada değerlendirdiğimiz bir diğer enzim olan FLA₂ enzimini arttırdığını gösteren çalışmalar vardır.⁶⁶

ALA'nın moleküler yapısında çift bağ olması nedeniyle potansiyel bir antioksidan özelliği vardır.⁶⁵ Çalışmalar oksidatif strese bağlı hücre içi kalsiyum seviyesindeki artışın FLA₂ enziminin aktivitesinde bir artışa yol açtığını göstermiştir.^{84,85}

Süperoksit radikalleri, hücrede eksojen ve endojen olarak üretilebilir. Endojen süperoksit radikallerinin kaynağı mitokondri iken eksojen kaynaklar nötrofil, eozinofil ve makrofajlardır. Patolojik olmayan durumlarda, hücredeki oksidanlar bazı hücre içi roller üstlenirler, ancak patolojik durumlarda, oksidan madde miktarı arttıkça hücrelere zarar verirler. Hücreler oksidanlara karşı antioksidan savunma sistemlerine sahiptir, ancak yüksek miktarda oksidatif strese maruz kaldıklarında, bu antioksidan sistem yetersiz kalır ve hücre hasarı başlar.

ALA, anti-oksidan özelliği nedeniyle oksidatif stresi azaltarak FLA₂ ekspresyonunu azaltmış olabilir. LPS'nin oksidatif stresi arttırdığı bilinmektedir.⁸⁴ FLA₂ inflamasyon yolağının ilk basamaklarına etki eder. FLA₂'nin azalması, sonraki aşamalarda sentezlenen prostaglandinlerin, sitokinlerin ve lökotrienlerin sentezinin azalmasına ve ayrıca COX-2'nin sentezlenmesinin azalmasına neden olabilir.⁷¹

NFκB, p53 ve AP-1 gibi transkripsiyonel faktörlerin oksijen türleriyle modüle edildiği gösterilmiştir. Bu nedenle, daha düşük reaktif oksijen türleri (ROT) üretimi, sinyal iletim yollarına etki edebilir.⁸⁶ ROT özellikle de H₂O₂, anjiyotensin, inflamatuvar sitokinler, büyüme faktörleri ve transformasyon faktörleri gibi çeşitli fizyolojik stimülatörler için gereken ikincil habercilerdir.⁸⁷

Önceki çalışmalar ve bizim bulgularımız eşliğinde ALA'nın antioksidan özelliği nedeniyle anti-inflamatuvar etkisinin olduğunu söyleyebiliriz.^{65,66} Bu çalışmada, hayvan orşit modeli geliştirildi bunun için sadece gram negatif bakterilerin duvar yapısında bulunan LPS kullanıldı. Bununla birlikte, LPS, gram negatif bakteri toksinlerinden sadece birisidir. Ayrıca alfa-linolenik asidin antibiyotik etkisinin olmadığı bilinmektedir. Orşit şiddetini azaltmak için sağlam bakteri, antibiyotik ve ALA'nın birlikte kullanılması gerekebilir. Bu nedenle, daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

6. SONUÇ

Bakteriyel orşit akut skrotumun en sık sebeplerinden birisidir. Biz de çalışmamızda gram negatif bakteri duvarının virülans faktörlerinden bir tanesi olan LPS'i orşit oluşturmak için kullandık. LPS uygulaması sonrası farelerde inflamatuvar mediyatörlerden olan COX-2, sFLA₂, iNOS, NFκB, IL-6 ve TNFα düzeylerini ölçtük.

LPS uygulaması sonrası bu mediyatörlerin ekspresyonunun arttığını tespit ettik. Anti-oksidan ve anti-inflamatuvar özelliği olduğunu daha önceki çalışmalardan bildiğimiz ALA uygulanmasının bu meadiatörlerin ekspresyonlarını anlamlı derecede azalttığını tespit ettik. Bu bulgular eşliğinde ALA, bakteriyel nedenle oluşan orşitin klinik şiddetini azaltabilir ve tedavisinde kullanılabilir.

7. KAYNAKLAR

1. **Tanagho EA, Mcaninch JW.** *Smith's General Urology.* New York, The Mc Graw - Hill Companies **2000**:750-787.
2. **Adams MC, Alfert HJ, MD.** *Campbell Üroloji.* Güneş Kitabevi, (8.basım), **2005**:76-78.
3. **Pettersson S, Soderholm B, Persson JE, Eriksson S, Fritjofsson A.** Testicular blood flow in man measured with venous occlusion plethysmography and xenon133. *Scand J Urol Nephrol* **1973**; 7(2):115-9.
4. **Jarow JP.** Intratesticular arterial anatomy. *J Androl* **1990**; 11(3):255-9.
5. **Wishahi MM.** Anatomy of the venous drainage of the human testis: testicularvein cast, microdissection and radiographic demonstration. Anew anatomical concept. *Eur Urol* **1991**; 20(2):154-60.
6. **Lennox B, Ahmad KN.** The total length of tubules in the human testis. *Journal of Anatomy* **1970**; 107(1):191.
7. **Rauchenwald M, Steers WD, Desjardins C.** Efferent innervation of the rat testis. *Biology of Reproduction* **1995**; 52(5):1136-43.
8. **Skandalakis JE, Skandalakis LJ, Colborn GL.** Testicular atrophy and neuropathy in herniorrhaphy. *The American Surgeon* **1996**; 62(9):775-82.
9. **Taguchi K, Tsukamoto T, Murakami G.** Anatomical studies of the autonomic nervous system in the human pelvis by the whole-mount staining method: left-right communicating nerves between bilateral pelvic plexuses. *J Urol* **1999**; 161(1):320-5.
10. **Sadler TW.** *Langman Medikal Embriyoloji.* Ankara. (9. basım). Palme yayıncılık, **2005**:330-349.
11. **Eşrefoğlu M.** *Özel Histoloji.* Malatya. Medipres yayıncılık, **2009**:253-264.
12. **Carneiro J, Junqueira CL.** *Temel Histoloji text & atlas.* Nobel yayıncılık, **2006**:431-441.
13. **Kierszenbaum AL.** *Histoloji ve Hücre Biyolojisi,* Patolojiye giriş. Ankara. Palme yayıncılık, **2006**:554.
14. **Anafarta K, Bedük Y, Arıkan N.** *Temel Üroloji* (3.baskı). Ankara. Güneş tıp yayınevi, **2007**:17.
15. **Hedger MP, Meinhardt A.** Cytokines and the immune-testicular axis. *Journal of Reproductive Immunology.* **2003**; 58(1):1-26.

16. **Hedger MP.** Testicular leukocytes: what are they doing? *Reviews of Reproduction* **1997**; 2(1):38-47.
17. **Hedger MP.** Macrophages and the immune responsiveness of the testis. *Journal of Reproductive Immunology* **2002**; 57(1-2):19-34.
18. **Tung KS, Teuscher C, Meng AL.** Autoimmunity to spermatozoa and the testis. *Immunological Reviews* **1981**; 55:217-55.
19. **Dorr H, Bohring C, Krause W.** Are antisperm antibodies indeed sperm-specific? *Andrologia* **2005**; 37(5):185-7.
20. **Francavilla F, Romano R, Santucci R, Marrone V, Properzi G, Ruvolo G.** Interference of antisperm antibodies with the induction of the acrosome reaction by zona pellucida (ZP) and its relationship with the inhibition of ZP binding. *Fertility and Sterility* **1997**; 67(6):1128-33.
21. **Weinbauer GF, Luetjens CM, Simoni M, Nieschlag E.** *Physiology of testicular function.* Andrology: Springer; **2010**:11-59.
22. **Guazzone VA, Jacobo P, Theas MS, Lustig L.** Cytokines and chemokines in testicular inflammation: A brief review. *Microscopy Research and Technique* **2009**; 72(8):620-8.
23. **Diemer T, Hales DB, Weidner W.** Immune-endocrine interactions and Leydig cell function: the role of cytokines. *Andrologia* **2003**; 35(1):55-63.
24. **Banchereau J, Steinman RM.** Dendritic cells and the control of immunity. *Nature* **1998**; 392(6673):245-52.
25. **Nistal M, Santamaria L, Paniagua R.** Mast cells in the human testis and epididymis from birth to adulthood. *Acta Anatomica* **1984**; 119(3):155-60.
26. **Metukuri MR, Reddy CM, Reddy PR, Reddanna P.** Bacterial LPS-mediated acute inflammation-induced spermatogenic failure in rats: role of stress response proteins and mitochondrial dysfunction. *Inflammation* **2010**; 33(4):235-43.
27. **Hedger MP.** Immunophysiology and pathology of inflammation in the testis and epididymis. *Journal of Andrology* **2011**; 32(6):625-40.
28. **Theas MS, Jacobo PV, Pérez CV, Guazzone VA, Lustig L.** *Inflammation and spermatogenesis.* Spermatogenesis: CRC Press; **2018**:77-86.
29. **Gerdprasert O, O'Bryan MK, Muir JA, Caldwell AM, Schlatt S, de Kretser DM, et al.** The response of testicular leukocytes to lipopolysaccharide-induced inflammation: further evidence for heterogeneity of the testicular macrophage population. *Cell and Tissue Research* **2002**; 308(2):277-85.

30. **Kajihara T, Okagaki R, Ishihara O.** LPS-induced transient testicular dysfunction accompanied by apoptosis of testicular germ cells in mice. *Medical Molecular Morphology* **2006**; 39(4):203-8.
31. **Inoue T, Aoyama-Ishikawa M, Kamoshida S, Nishino S, Sasano M, Oka N, et al.** Endogenous interleukin-18 regulates testicular germ cell apoptosis during endotoxemia. *Reproduction* **2015**:4-27.
32. **Zhang X, Shi K, Li Y, Zhang H, Hao J.** Lipopolysaccharide inhibits the self-renewal of spermatogonial stem cells in vitro via downregulation of GDNF expression in Sertoli cells. *Reproductive Toxicology* **2014**; 45:87-93.
33. **Sharpe R, Donachie K, Cooper I.** Re-evaluation of the intratesticular level of testosterone required for quantitative maintenance of spermatogenesis in the rat. *Journal of Endocrinology* **1988**; 117(1):19.
34. **Theas MS.** Germ cell apoptosis and survival in testicular inflammation. *Andrologia* **2018**; 50(11):130-83.
35. **MacMicking J, Xie QW, Nathan C.** Nitric oxide and macrophage function. *Annual Review of Immunology* **1997**; 15:323-50.
36. **Boota A, Zar H, Kim Y, Johnson B, Pitt B, Davies P.** IL-1 beta stimulates superoxide and delayed peroxynitrite production by pulmonary vascular smooth muscle cells. *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology* **1996**; 271(6):932-938.
37. **Nagai H, Kumamoto H, Fukuda M, Takahashi T.** Inducible nitric oxide synthase and apoptosis-related factors in the synovial tissues of temporomandibular joints with internal derangement and osteoarthritis. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery* **2003**; 61(7):801-817.
38. **Quan N, Whiteside M, Herkenham M.** Cyclooxygenase 2 mRNA expression in rat brain after peripheral injection of lipopolysaccharide. *Brain Research* **1998**; 802(1-2):189-97.
39. **Xie Q, Kashiwabara Y, Nathan C.** Role of transcription factor NF-kappa B/Rel in induction of nitric oxide synthase. *Journal of Biological Chemistry* **1994**; 269(7):4705-8.
40. **Baeuerle PA, Baltimore D.** NF-κB: ten years after. *Cell* **1996**; 87(1):13-20.
41. **Chen C-C, Wang J-K.** p38 but not p44/42 mitogen-activated protein kinase is required for nitric oxide synthase induction mediated by lipopolysaccharide in RAW 264.7 macrophages. *Molecular Pharmacology* **1999**; 55(3):481-8.
42. **Kim Y-H, Lee S-H, Lee J-Y, Choi S-W, Park J-W, Kwon TK.** Triptolide inhibits murine-inducible nitric oxide synthase expression by down-regulating lipopolysaccharide-induced activity of nuclear factor-κB and c-Jun NH2-terminal kinase. *European Journal of Pharmacology* **2004**; 494(1):1-9.

43. **Taketo MM, Sonoshita M.** Phospholipase A2 and apoptosis. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids* **2002**; 1585(2-3):72-6.
44. **Kudo I, Murakami M.** Phospholipase A2 enzymes. *Prostaglandins & other lipid mediators* **2002**; 68:3-58.
45. **Murakami M, Kudo I.** Recent advances in molecular biology and physiology of the prostaglandin E2-biosynthetic pathway. *Progress in Lipid Research* **2004**; 43(1):3-35.
46. **Underwood KW, Song C, Kriz RW, Chang XJ, Knopf JL, Lin L-L.** A novel calcium-independent phospholipase A2, cPLA2- γ , that is prenylated and contains homology to cPLA2. *Journal of Biological Chemistry* **1998**; 273(34):21926-32.
47. **Clark JD, Lin L-L, Kriz RW, Ramesha CS, Sultzman LA, Lin AY, et al.** A novel arachidonic acid-selective cytosolic PLA2 contains a Ca²⁺-dependent translocation domain with homology to PKC and GAP. *Cell* **1991**; 65(6):1043-51.
48. **Balsinde J, Winstead MV, Dennis EA.** Phospholipase A2 regulation of arachidonic acid mobilization. *FEBS Letters* **2002**; 531(1):2-6.
49. **Capper EA, Marshall LA.** Mammalian phospholipases A (2): mediators of inflammation, proliferation and apoptosis. *Progress in Lipid Research* **2001**; 40(3):167.
50. **Gijón MA, Leslie CC.** Regulation of arachidonic acid release and cytosolic phospholipase A2 activation. *Journal of Leukocyte Biology* **1999**; 65(3):330-6.
51. **Knab LM, Grippo PJ, Bentrem DJ.** Involvement of eicosanoids in the pathogenesis of pancreatic cancer: the roles of cyclooxygenase-2 and 5-lipoxygenase. *World Journal of Gastroenterology: WJG* **2014**; 20(31):10729.
52. **Fu J-Y, Masferrer J, Seibert K, Raz A, Needleman P.** The induction and suppression of prostaglandin H2 synthase (cyclooxygenase) in human monocytes. *Journal of Biological Chemistry* **1990**; 265(28):16737-40.
53. **Morita I, Schindler M, Regier MK, Otto JC, Hori T, DeWitt DL.** Different intracellular locations for prostaglandin endoperoxide H synthase-1 and-2. *Journal of Biological Chemistry* **1995**; 270(18):10902-8.
54. **Smith WL, Garavito RM, DeWitt DL.** Prostaglandin endoperoxide H synthases (cyclooxygenases)-1 and- 2. *Journal of Biological Chemistry* **1996**; 271(52):33157-60.
55. **Hoffmann C.** COX-2 in Brain and Spinal Cord-Implications for Therapeutic Use. *Current Medicinal Chemistry* **2000**; 7(11):1113-20.

56. **Gambaro G.** Strategies to safely interfere with prostanoid activity while avoiding adverse renal effects: could COX-2 and COX-LOX dual inhibition be the answer? *Nephrology Dialysis Transplantation* **2002**; 17(7):1159-62.
57. **Besler H, Coşkun T.** Uzun zincirli yağ asitlerinin kimyasal özellikleri ve sağlıkla olan etkileşimi. *Katkı Pediatri Dergisi* **2006**; 28:5-20.
58. **Besler HT, Coşkun T.** Uzun Zincirli Yağ Asitlerinin Kimyasal Özellikleri ve Sağlıkla Olan Etkileşimi. *Katkı Pediatri Dergisi* **2006**; 28(1):5-20.
59. **Watkins BA.** Importance of essential fatty acids and their derivatives in poultry. *The Journal of Nutrition* **1991**; 121(9):1475-85.
60. **Murray RK, Mayez PA, Granner DK, Rodwell VW.** *Harper'ın Biyokimyası* (Çevirenler: Mentec, G., Ersöz, B.), Baris kitabevi, İstanbul.
61. **Lewis NM, Seburg S, Flanagan N.** Enriched eggs as a source of n-3 polyunsaturated fatty acids for humans. *Poultry Science* **2000**; 79(7):971-4.
62. **Bucher HC, Hengstler P, Schindler C, Meier G.** N-3 polyunsaturated fatty acids in coronary heart disease: a meta-analysis of randomized controlled trials. *The American Journal of Medicine* **2002**; 112(4):298-304.
63. **De Lorgeril M, Salen P, Martin J-L, Monjaud I, Delaye J, Mamelle N.** Mediterranean diet, traditional risk factors, and the rate of cardiovascular complications after myocardial infarction: final report of the Lyon Diet Heart Study. *Circulation* **1999**; 99(6):779-85.
64. **Ogawa A, Suzuki Y, Aoyama T, Takeuchi H.** Dietary alpha-linolenic acid inhibits angiotensin-converting enzyme activity and mRNA expression levels in the aorta of spontaneously hypertensive rats. *Journal of Oleo Science* **2009**; 58(7):355-60.
65. **Alessandri C, Pignatelli P, Loffredo L, Lenti L, Del Ben M, Carnevale R, et al.** Alpha-linolenic acid-rich wheat germ oil decreases oxidative stress and CD40 ligand in patients with mild hypercholesterolemia. *Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology* **2006**; 26(11):2577-8.
66. **Ren J, Chung SH.** Anti-inflammatory effect of α -linolenic acid and its mode of action through the inhibition of nitric oxide production and inducible nitric oxide synthase gene expression via NF- κ B and mitogen-activated protein kinase pathways. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2007**; 55(13):5073-80.
67. **Budowski P.** *ω 3-Fatty acids in health and disease.* Aspects of Human Nutrition. 57: Karger Publishers; **1988**:214-74.
68. **Leaf A, Weber PC.** Cardiovascular effects of n-3 fatty acids. *New England Journal of Medicine* **1988**; 318(9):549-57.

69. **Dyerberg J.** Linolenate-derived polyunsaturated fatty acids and prevention of atherosclerosis. *Nutrition Reviews* **1986**; 44(4):125-34.
70. **Kromhout D, Bosschieter EB, Coulander CdL.** The inverse relation between fish consumption and 20-year mortality from coronary heart disease. *New England Journal of Medicine* **1985**; 312(19):1205-9.
71. **Suleyman H, Demircan B, Karagoz Y.** Anti-inflammatory and side effects of cyclo-oxygenase inhibitors. *Pharmacological Reports* **2007**; 59(3):247.
72. **Kaplan H, Izol V, Aridogan I, Olgan E, Yegani A, Pazarci P, et al.** Protective Effect of Alpha-linolenic Acid on Gentamicin Induced Nephrotoxicity in Mice. *International Journal of Pharmacology* **2016**; 12(5):562-6.
73. **Singh S, Majumdar D.** Evaluation of antiinflammatory activity of fatty acids of Ocimum sanctum fixed oil. *Indian Journal of Experimental Biology* **1997**; 35(4):380-3.
74. **Ren J, Han EJ, Chung SH.** In Vivo and In Vitro Anti-inflammatory Activities of α -Linolenic Acid Isolated from Actinidia Polygama Fruits. *Archives of Pharmacal Research* **2008**; 35(1):104-.
75. **Munsterman AS, Bertone AL, Zachos TA, Weisbrode SE.** Effects of the omega-3 fatty acid, α -linolenic acid, on lipopolysaccharide-challenged synovial explants from horses. *American Journal of Veterinary Research* **2005**; 66(9):1503-8.
76. **Lowenstein CJ, Alley EW, Raval P, Snowman AM, Snyder SH, Russell SW, et al.** Macrophage nitric oxide synthase gene: two upstream regions mediate induction by interferon gamma and lipopolysaccharide. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **1993**; 90(20):9730-4.
77. **Karin M.** The beginning of the end: I κ B kinase (IKK) and NF- κ B activation. *Journal of Biological Chemistry* **1999**; 274(39):27339-42.
78. **Johnson GL, Lapadat R.** Mitogen-activated protein kinase pathways mediated by ERK, JNK, and p38 protein kinases. *Science* **2002**; 298(5600):1911-2.
79. **Kyriakis JM, Avruch J.** Sounding the alarm: protein kinase cascades activated by stress and inflammation. *Journal of Biological Chemistry* **1996**; 271(40):24313-6.
80. **Kaplan H, Izol V, Aridogan I, Olgan E, Yegani A, Pazarci P, et al.** Protective effect of Hypericum perforatum extract on gentamicin induced nephrotoxicity in mice. *International Journal of Pharmacology* **2016**; 12(6):663-8.
81. **Poljakovic M, Svensson M-L, Svanborg C, Johansson K, Larsson B, Persson K.** Escherichia coli-induced inducible nitric oxide synthase and cyclooxygenase expression in the mouse bladder and kidney. *Kidney International* **2001**; 59(3):893-904.

82. **Ansari MA, Raish M, Ahmad A, Ahmad SF, Mudassar S, Mohsin K, et al.** Sinapic acid mitigates gentamicin-induced nephrotoxicity and associated oxidative/nitrosative stress, apoptosis, and inflammation in rats. *Life Sciences* **2016**; 165:1-8.
83. **Noworyta-Sokolowska K, Górska A, Golembiowska K.** LPS-induced oxidative stress and inflammatory reaction in the rat striatum. *Pharmacological Reports* **2013**; 65(4):863-9.
84. **Esposito E, Cuzzocrea S.** The role of nitric oxide synthases in lung inflammation. *Curr Opin Investig Drugs* **2007**; 8(11):899-909.
85. **Kaplan H.** Contribution of Rho/Rho-kinase Signalisation Pathway to Gentamicin Induced Nephrotoxicity in Mice. *International Journal of Pharmacology* **2016**; 12(6):617-20.
86. **Cong X, Zhang Q, Li H, Jiang Z, Cao R, Gao S, et al.** Puerarin ameliorates heat stress-induced oxidative damage and apoptosis in bovine Sertoli cells by suppressing ROS production and upregulating Hsp72 expression. *Theriogenology* **2017**; 88:215-27.
87. **Liu X, Jefcoate C.** 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin and epidermal growth factor cooperatively suppress peroxisome proliferator-activated receptor- γ 1 stimulation and restore focal adhesion complexes during adipogenesis: selective contributions of Src, Rho, and Erk distinguish these overlapping processes in C3H10T1/2 cells. *Molecular Pharmacology* **2006**; 70(6):1902-15.

8. ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Fesih OK
Doğum Tarihi ve Yeri : 10.09.1990 BİNGÖL
Medeni Durumu : Evli
Adres : Güzelyalı mahallesi 81015 sokak No:3 Deep
Park Apt. D:9 Çukurova/ADANA
Telefon : 0 (507) 639 19 87
Faks : -
E- posta : fesihok0121@gmail.com
Mezun Olduğu Tıp Fakültesi : Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi (2007-2013)
Görev Yerleri : 2013-2014 Bismil Devlet Hastanesi
Bismil/Diyarbakır
2014-2019 Çukurova Üniversitesi Üroloji ABD
Alınan burslar :
Yabancı Dil : İngilizce
Dernek Üyelikleri : Ürolojik Cerrahi Derneği (ÜCD)
Avrupa Üroloji Derneği (EAU)
Diğer hususlar :