

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HİSTOLOJİ EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ERİŞKİN SIÇANLARDA IL-1 ALFA'NIN
İNTRATESTİKÜLER ENJEKSİYONUNU TAKİBEN
TESTİSTE OLUŞAN HİSTOLOJİK
DEĞİŞİKLİKLERİN İNCELENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Zehra GÜLŞAH AKIN

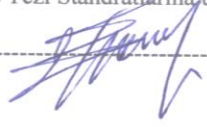
ELAĞIĞ – 2014

ONAY SAYFASI

Prof. Dr. Mustafa KAPLAN

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Bu Tez Yüksek Lisans Tezi Standartlarına uygun bulunmuştur.



Prof. Dr. İbrahim Enver OZAN

Histoloji Embriyoloji Anabilim Dalı Başkanı

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Yüksek Lisans Tezi
olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Leyla CANPOLAT KOYUTÜRK

Danışman



Yüksek Lisans Tezi Sınav Jüri Üyeleri

Prof. Dr. İ. Enver OZAN

Prof. Dr. Leyla C. Koyutürk

Doç. Dr. Selahattin İLHAN



TEŞEKKÜR

Bu çalışmayı değerli katkılarıyla yönlendiren ve yardımlarını esirgemeyen hocam, sayın Prof. Dr. Leyla CANPOLAT KOYUTÜRK'e, eğitimim ve çalışmam sırasında desteklerini gördüğüm, bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım hocalarım PROF. DR. İBRAHİM ENVER OZAN, PROF. DR. NERİMAN ÇOLAKOĞLU, DOÇ. DR. DÜRRİN ÖZLEM DABAK ve YRD. DOÇ. DR. TUNCAY KULOĞLU'na, yine deney hayvanları laboratuvar çalışmam sırasında desteğini esirgemeyen Veteriner Fakültesi, Suni Tohumlama Anabilim Dalı Öğretim Üyesi PROF. DR. Dr. Gaffari TÜRK'e değerli katkılarından dolayı teşekkür ederim.

Ayrıca öğrenimim boyunca birlikte çalıştığım Dr. Nevin KOCAMAN'a sevgili arkadaşım Esra EBİL ERDEM'e, bilgi ve tecrübesiyle bana destek olan arkadaşım Arş. Gör. Dr. Ersoy BAYDAR'a ve öğrenimim boyunca bana destek olan dostlarıma çok teşekkür ederim.

Tezime sağladığı finansmandan ötürü Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi (FÜBAP)'ne,

Bu günlere gelmemde büyük pay sahibi olan aileme, özellikle anneme desteklerinden dolayı teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

BAŞLIK SAYFASI.....	i
ONAY SAYFASI.....	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	vii
TABLolar LİSTESİ.....	xi
KISALTMALAR LİSTESİ.....	xii
1. ÖZET.....	1
2. ABSTRACT	3
3.GİRİŞ	5
3.1. Testis Anatomisi.....	5
3.2. Testis embriyolojisi	7
3.3. Testis Histolojisi.....	11
3.3.1.Seminifer Tübüller	12
3.3.2. Sertoli Hücreleri.....	14
3.3.3. İnterstisyel Doku (Leydig Hücreleri).....	16
3.3.4. Spermatogenez.....	17
3.3.5. Spermiyogenez.....	18
3.3.5.1. Golgi Fazı.....	19
3.3.5.2. Akrozomal Evre	19
3.3.5.3. Olgunlaşma Evresi	20
3.4. Sitokinler	20

3.4.1. Tanım	20
3.4.2. Tarihçe	21
3.4.3. Etkileri ve Üretildiği Yerler	21
3.4.4. İnterlökin.....	26
3.4.4.1. Tanım	26
3.4.4.2. İnterlökin-1 (IL-1) Ailesi	27
3.4.4.3. İnterlökin-1 Alfa (IL-1 α , IL-1A).....	29
3.4.4.3.1. Diğer İsimleri	30
3.4.4.3.2. Sentezlenmesi ve Yapısı.....	30
3.4.4.3.2. Yapımı ve Hücrel Kaynakları	31
3.4.4.3.4. Etkileşimleri	31
3.4.4.3.5. Düzenleyici Moleküller	31
3.4.4.3.6. Biyolojik Etkinlik	32
3.4.4.3.6.1. İn Vitro.....	32
3.4.4.3.6.2. İn Vivo	33
3.4.4.3.7. Farmasotik Uygulamaları	33
4. GEREÇ VE YÖNTEM	34
4.1. Materyal.....	34
4.2. Deney Gruplarının Oluşturulması ve Deneysel Uygulamalar	35
4.3. Histolojik Çalışmalar	36
4.4. TUNEL Metodu	37
5. BULGULAR	40
5.1. Histolojik Bulgular	40
5.2. TUNEL Bulgular	44

6. TARTIŞMA	70
KAYNAKLAR	76
ÖZGEÇMİŞ.....	82

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. İnsan testisinin midsagittal kesiti.....	6
Şekil 2. A. Génital kabarıklık ve mezonefroz arasındaki ilişkiyi gösteren çizim...	9
Şekil 3. Haftalık embriyoda yolk kesesi duvarında, allontois bağlantısına yakın bir yerde primordial germ hücrelerini gösteren şematik çizim.....	10
Şeki 4. Testis Yapısı	12
Şeki 5. Testis Dokusunun Mikroskopik Yapısı	14
Şekil.4. Şematize Tubulus Seminiferus Kontortus	15
Şekil 7. IL-1A'nın şematize sarmal yapısı	29
Şekil 8. Kontrol grubuna ait normal yapıdaki sıçan testis dokusu.....	45
Şekil 9. Kontrol grubuna ait normal yapıdaki sıçan testis dokusu.....	45
Şekil 10. Kontrol PBS uygulanmış grubuna ait normal yapıdaki sıçan testis dokusu.	46
Şekil 11. IL-1A uygulanmış 0. gündeki testis dokusu.	46
Şekil 12. IL-1A uygulanmış 0. gün testis dokusu.	47
Şekil 13. IL-1A uygulanmış 0. gündeki testis dokusu.	48
Şekil 14. IL-1A uygulanmış 1. gündeki testis dokusu.	48
Şekil 15. IL-1A uygulanmış 1. gündeki testis dokusunda kromozomları belirgin hale geçmiş metafaza geçiş dönemindeki spermatosit hücreleri.....	49
Şekil 16. IL-1A uygulanmış 1. gündeki dejenere testis dokusu. seminifer tübülün bazal membranında katlantılar ve hiyalinizasyon gösteren tübüller ..	49
Şekil 17. IL-1A uygulanmış 1. gündeki testis dokusunda tübüller arası alanda mononükleer hücre infiltrasyonu	50

Şekil 18. IL-1A uygulanmış 3. gündeki testis dokusunda tübül epitelyum hücreleri arasında ayrılmalar.....	50
Şekil 19. IL-1A uygulanmış 3. gündeki testis dokusunda mononükleer hücre infiltrasyonunun gösterilmesi.....	51
Şekil 20. IL-1A uygulanmış 3. gündeki testis dokusunda bazal mambrandan ayrılan belirgin kollogen iplikler.....	51
Şekil 21 . IL-1A uygulanmış 4. gündeki testis dokusunda plazma hücrelerinde artışın gösterilmesi	52
Şekil 22. IL-1A uygulanmış 4. gündeki testis dokusu.....	52
Şekil 23. IL-1A uygulanmış 4. gündeki testis dokusu kesitinde tübül lümeninde olgunlaşmamış spermatidlerin görüldüğü seminifer tübül.....	53
Şekil 24. IL-1A uygulanmış 4. gündeki testis dokusu kesitinde lümeninde değişik evrelerdeki olgunlaşmamış tübül hücreleri	53
Şekil 25. IL-1A uygulanmış 4. gündeki testis dokusunda dejenaratif tübül yapısının gösterilmesi.....	54
Şekil 26. IL-1A uygulanmış 4. gündeki testis dokusunda tübül içerisinde atipik hücreler.....	54
Şekil 27. IL-1A uygulanmış 6. gündeki testis dokusu.	55
Şekil 28. IL-1A uygulanmış 6. gündeki testis dokusunda seminifer tübül epitelinde vakuollerin görüntülediği seminifer tübül.....	55
Şekil 29. IL-1A uygulanmış 6. gündeki testis dokusunda spermatogenik serideki hücrelerde azalma.....	56
Şekil 30. IL-1A uygulanmış 6. gündeki testis dokusunda seminifer tübül epitelindeki boşluklar	56

Şekil 31. IL-1A uygulanmış 6. gündeki testis dokusunda belirgin gözlenen Sertoli hücreleri.....	57
Şekil 32. IL-1A uygulanmış 8. gündeki testis dokusunda atipik hücrelere sahip tübüllerin gösterilmesi.....	57
Şekil 33. IL-1A uygulanmış 8. gündeki testis dokusu	58
Şekil 34. IL-1A uygulanmış 8. gündeki testis dokusunda tübül bazal membranında ayrılma.....	58
Şekil 35. IL-1A uygulanmış 8. gündeki testis dokusu. İnterstisyel alanda ödem .	59
Şekil 36. IL-1A uygulanmış 8. gündeki testis dokusunda tübül epitel hücrelerinde metafaz arresti	60
Şekil 37. IL-1A uygulanmış 8. gündeki dejeneratif testis dokusu.....	60
Şekil 38. IL-1A uygulanmış 8. gündeki testis dokusunda interstisyel alanda damar ve bağ doku hücre artışının gösterilmesi.....	61
Şekil 39. IL-1A uygulanmış 15. gündeki testis dokusunda spermatogenik evre hücrelerini içermeyen, dizilimi bozulmuş tübüller	61
Şekil 40. IL-1A uygulanmış 15. gündeki testis dokusu.	62
Şekil 41. IL-1A uygulanmış 15. gündeki testis dokusunda birbirinden farklı görünümlü seminifer tübüller	62
Şekil 42. IL-1A uygulanmış 15. gündeki testis dokusunda dejeneratif hücreler içeren seminifer tübül epiteli.....	63
Şekil 43. IL-1A uygulanmış 30. gündeki testis dokusunda dejenaratif tübüller..	63
Şekil 44. IL-1A uygulanmış 30. gündeki testis dokusunda tübül epitelinde vakuolizasyon varlığının gösterilmesi.....	64

Şekil 45. IL-1A uygulanmış 30. gündeki testis dokusu vakuolizasyon gösteren dejeneratif tübüller	64
Şekil 46. Kontrol grubu testis dokusu TUNEL negatif seminifer tübüller	65
Şekil 47. IL-1A uygulanmış 0.gün testis dokusu TUNEL	65
Şekil 48. IL-1A uygulanmış 1.gün TUNEL pozitif boyanmış spermatogonia hücreleri.....	66
Şekil 49. IL-1A uygulanmış 1.gün TUNEL pozitif boyanmış dejeneratif hücreler içeren seminifer tübül epiteli.....	66
Şekil 50. IL-1A uygulanmış 3.gün TUNEL pozitif boyanmış seminifer tübül epiteli.....	67
Şekil 51. IL-1A uygulanmış 4.gün değişik evrelerde TUNEL pozitif boyanmış tübül epitel hücreleri.....	67
Şekil 52. IL-1A uygulanmış 6. gün TUNEL pozitif boyanmış dejeneratif hücreler içeren seminifer tübül epiteli.....	68
Şekil 53. IL-1A uygulanmış 8. gün TUNEL pozitif boyanmış dejeneratif hücreler içeren seminifer tübül epiteli.....	68
Şekil 54. IL-1A uygulanmış 15. gün TUNEL pozitif boyanmış dejeneratif hücreler içeren seminifer tübül epiteli.....	69
Şekil 55. IL-1A uygulanmış 30. gün nadir TUNEL pozitif boyanmış seminifer tübül epiteli.....	69

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 1. İnterlökin Grubu.....	23
Tablo 2. Koloni Stimüle Edici Faktörler Grubu.....	25
Tablo 3. Tümör Nekrotize Edici Faktörler Grubu.....	25
Tablo 4. İnterferonlar Grubu	25
Tablo 5. Diğer Sitokinler.....	26
Tablo 6. Deney hayvanlarına verilen sıçan yeminin terkiibi.....	34
Tablo 7. Histolojik takip serileri.....	37
Tablo 8. TUNEL boyama prosedürü	38
Tablo 9. TUNEL boyama yaygınlığının derecesi.....	39

KISALTMALAR LİSTESİ

AMH	: Antimüllerian hormon.
IL	: İnterlökin.
IL-1A	: İnterlökin-1 Alfa.
IL-1B	: İnterlökin-1 Beta.
IL-1Ra	: İnterlökin-1 reseptör antagonisti.
IFN	: İnterferon.
KTb	: Kan Testis Bariyeri.
TbF	: Testis Belirleyici Faktör.
TNF	: Tumor Nekrozis Faktör.
PBS	: Phosphate Buffered Saline.

1. ÖZET

İnterlökin-1 alfa (IL-1A) immüitenin düzenlenmesi ve inflamatuvar cevabın oluşmasında önemli rol oynamaktadır. Testiste IL-1A'nın, hem fizyolojik hem de patofizyolojik etkilerinin olduğu bilinmektedir.

Bu çalışmada IL-1A 'nın letal seviyelerinde testiste oluşturduğu hasarın histolojik olarak incelenmesi amaçlanmıştır. Çalışmada 36 adet Wistar Albino tipi erişkin erkek sıçanlar kullanıldı. Kontrol grubu (n=4) dışındaki sıçanların her iki testisine 250 ng. IL-1A mikroenjektör yardımı ile intratestiküler enjekte edildi. Ve sıçanlar 0.,1.,3.,4.,6.,8.,15.,ve 30. günlerde eter anestezisi ile dekapite edildikten sonra testis dokuları çıkarılıp rutin histolojik takipler yapıldıktan sonra histolojik boyama yöntemleri ve TUNEL metodu uygulandı.

IL-1A uygulanmış sıçanların günlere bağlı olarak tübül hasarının giderek arttığı, seminifer tübül yapısında dejenerasyonlar, tübül lümeninde olgunlaşmadan atılmış germ hücreleri, bazal membranda katlantılar, interstisyel alanda genişlemeler ve Sertoli-germ hücre yapışmasının etkilendiği gözlemlendi. Bunun yanı sıra bazı tübüllerde plazma hücresinde atış görüldü. Bu etkiler 30. günün sonunda, hasar artmasa da, tübül dejenerasyonlarının düzelmediğini, kan damarlarında artış ve konjesyonun varlığını ve bu hasarların geri dönüşümsüz olarak testis dokusunu etkilediği gözlemlendi.

TUNEL boyamanın sonucunda apoptotik hücrelerin belirlenmesiyle 4.,6. ve 8. günlerde dejenaratif hücreler de dahil TUNEL pozitifliğin en şiddetli olduğu belirlendi. 15. ve 30. günlerde ise boyanma şiddetinin azalarak sonuçlandığı belirlendi.

Sonuç olarak; IL-1A'nın letal dozlarında testiste oluşacak değişikliklerin olumsuz sonuçlanabileceği ve ilerleyen günlerde etkilerinin geri dönüşümsüz olabileceği gözlemlendi.

Anahtar Kelimeler: İnterlökin1-alfa, testis, erişkin sıçan, mikroskopi, histoloji

2. ABSTRACT

THE EXAMINATION OF THE HISTOLOGICAL CHANGES IN TESTES AFTER INTERLEUKIN-1 ALPHA INTRATESTICULAR INJECTIONS IN ADULT RATS

Interleukin-1 alpha (IL-1A) has an important role on the regulation of immunity and inflammatory response. IL-1A is known to have both physiologic and pathophysiologic effects on testicular structures.

In this study, histologic observation of the damage of IL-1A on testis tissues at lethal doses was aimed. 36 Wistar Albino male adult rats were used in the study. All rats, out of control group (n=4), were injected 250 ng IL-1A in both testicles by the help of micro-syringe. Testis tissues were taken out, routine histologic follows were conducted and histologic dying procedures and TUNEL method was applied after the rats were sacrificed by ether anesthesia and decapitation on the days 0, 1, 3, 4, 6, 8, 15 and 30.

Parallel to the ongoing days, gradual increasing of tubular injury, degenerations on seminiferous tubular structures, immature germ cells shed into the lumens of tubules, folded basal membranes and widening in the interstitial region at the IL-1A injection group were observed. In addition to those, increased plasma cells on some of the tubules and affecting of sertoli-germ cell adhesion were observed.

At the end of 30th day, even if the damage was not increased, no healing of tubular degenerations, increasing of blood vessels, presence of congestion and affecting of testis tissues irreversibly by those injuries were observed.

After TUNEL dying, by the identifying of apoptotic cells; strongest immunopositivity, including degenerative cells on the day 4, 6, and 8, were identified. Gradually decreasing of the dying intensity on the days 15 and 30 was also noted.

In conclusion, it was noted that IL-1A at lethal doses may cause unfavorable/negative effects on testicles and those effects may be irreversible on the subsequent days.

Key Words: Interleukin-1 alpha, testis, adult rat, microscopy, histology

3.GİRİŞ

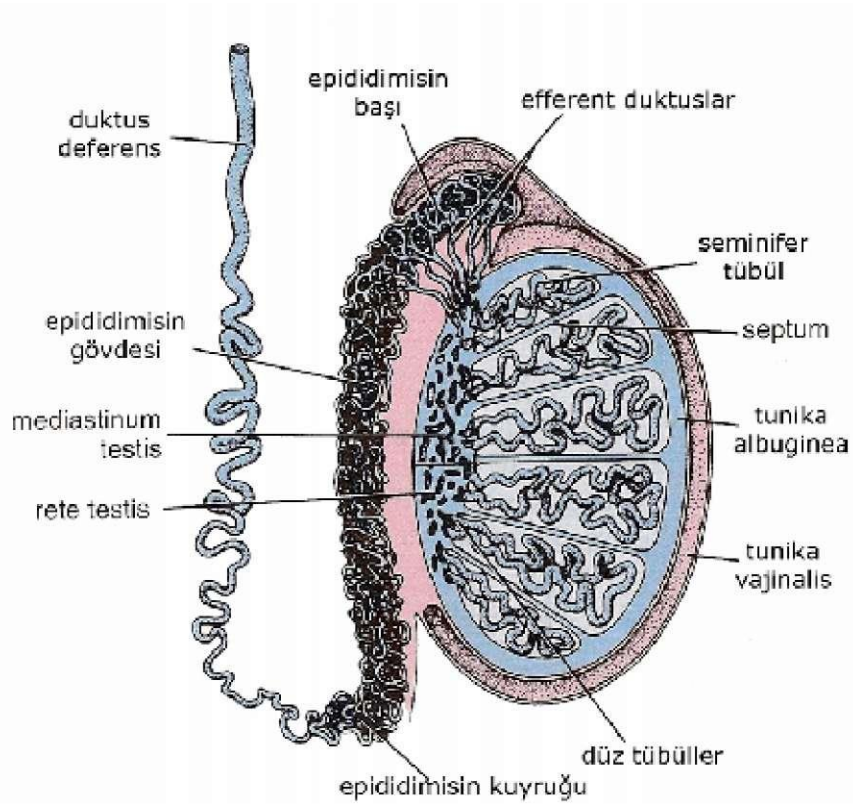
3.1. Testis Anatomisi

Funnikulus spermatikusa asılı durumda bulunan testisler, sağı sollu bir çift olup, skrotumun içinde bulunurlar. İri bir badem büyüklüğünde olan testisler yaklaşık olarak 4-5 cm uzunluğunda, 2,5 cm genişliğinde, 3 cm kalınlığında ve 10-14 gr ağırlığındadır. Testis, lamina vaginalis, tunika albuginea ve tunika vaskulosa olmak üzere üç tabaka ile sarılmıştır. Tunika vaginalis testis, fascia spermatika internanın iç, testisin de dış yüzünü saran seröz peritoneal zardır. Testisi örten kısmına lamina visceralis, fascia spermatika internaya yapışan kısmına ise lamina parietalis denir (1).

Testis, canlıda beyaz görünüm sergilemesi nedeniyle tunika albuginea adı verilen sıkı fibroelastik bağ dokusundan oluşan kalın bir kapsül ile sarılmış durumdadır. Daha dış kısımdaki visseral katman olan tunika vaginalis kapsülü dıştan sarar. Testisin arka kenarında kapsül kalın bir katlanma şeklinde içeriye doğru uzanır, bu kısım mediastinum testis adını alır. Söz konusu katlanma diğer bezlerde kanalların, kan damarlarının, lenfatiklerin ve sinirlerin bez içine bağlandığı hilum yapısına karşılık gelmektedir (2).

Tunika vaskulosa, tunika albugineanın iç yüzünde bulunan damar ağı tabakasıdır. Tunika albugineanın iç yüzünü ve tüm bölmelerin yüzeylerini döşer. Böylece testisin içindeki tüm lobuli testisi de sarmış olur (1). İnce fibröz bölmeler ya da başka bir deyişle septumlar, mediastiumdan ışınal olarak uzanarak insanda kama şeklindeki yaklaşık 250 adet lobülü oluşturur. Lobüller içinde seminifer tübüller bulunur ve kıvrımlı yapılarından dolayı bunlar kesite farklı düzlemlerde

girer. Her testiste toplam uzunluğu 280-400 m arasında olan 600-1200 seminifer tübül bulunur. Mediastinumda, seminifer tübülleri rektifiye (düz tübüllere) ve rete testise boşalır ve rete testis birleşerek sayısı 6-8 adet olan duktuli efferentes oluşturur. Bu kanallar testis sıvısını ve spermatozoonları epididimisin proksimal kısmına aktarır (2). Epididimiste depo edilen spermatozoonlar olgunlaşmasının son safhasını tamamlar (1). Rete testis tek katlı kübik epitelden oluşan labirent biçiminde toplayıcı bölümlerdir. Bezin %20 - %30 kadarını interstisyel bağ dokusu oluşturur; interstisyel doku hormon üreten Leydig hücre kümelerinin yer aldığı damardan zengin bağ dokusu içerir (2).



Şekil 1. İnsan testisinin midsagittal kesiti (3).

Testis ve epididimis aortanın dalı olan a. testicularisten beslenirler. A. testicularis, A. renalislerin biraz aşağısında aortanın ön yüzünden ayrılan bir çift

arterdir. A. testicularis birçok dala ayrılır. Bu dallardan 2 veya 4 tanesi duktus deferens boyunca uzanarak epididimisi besler. Diğer dalları tunika albugineanın arka kısmından testise girer ve bu organı besler.

Testis ve epididimisin venleri önce plexus pampiniformis denilen kıvrıntılı bir ven plexusunu, daha sonra da birbirleriyle birleşerek V. testicularisi oluştururlar. Bunların da sağ taraftaki V. cava inferiora, sol taraftaki V. renalis sinistraya açılır. V. testicularislerde kapakçık bulunur (1).

Lenfatik drenaj yüzeysel ve derin olmak üzere iki şekilde olur. Yüzeysel tunika vaginalisin yüzeyselinde, derindeki ise epididimis ve testisin içinde bulunur. Bunlar 4-8 damar şeklinde funnikulus spermaticus ile birlikte karın boşluğuna girerler. v. testicularisi takip ederek aortanın ön ve yan tarafındaki lenf nodüllerine açılırlar.

T10 - 11. medulla spinalis segmentlerinden kaynaklanan sempatik lifler, damarların çevresindeki plexuslar aracılığı ile gelir. Plexus testikularis erkeklerde A. testicularis etrafında testise uzanır, dalları da epididimis ve duktus deferense gider. Üst bölümü plexus aortikus abdominalis ve plexus renalisden, alt bölümü ise plexus hipogastrikus superior ve inferiordan lifler alır (1).

3.2. Testis embriyolojisi

Ürogenital sistem, embriyonun posteriyor yüzünden köken alan intermediyer mezenşimden gelişir. Embriyonun horizontal planda katlanması sırasında (4. hafta başında) bu mezoderm ventrale doğru çekilir ve somitlerle bağlantısını kaybeder. Dorsal aortun her iki yanında ürogenital kabarıntı adı

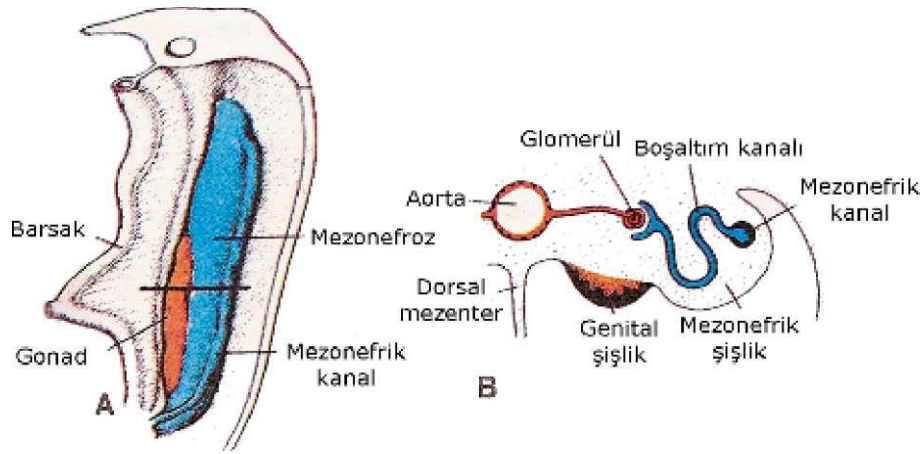
verilen dikey bir mezoderm kabartısı oluşur. Bu yapı daha sonra üriner ve genital sistemleri oluşturacaktır.

Ürogenital kabartının bir kısmı üriner sistemi oluşturacak olan nefronejik kabartı, diğer kısmı ise genital sistemi oluşturacak olan gonadal kabartı olarak adlandırılır. Nefrojenik kordonun servikal ve yukarı torasik bölgelerinden pronefrozlar, aşağı torasik lumbar ve sakral bölgelerinden mezonefrozlar ve metanefrozlar gelişir. İnsan embriyosunda ilk olarak 4. hafta başlangıcında ortaya çıkan bilateral bu yapılar, geçicidir ve fonksiyonel değildir. 4. haftanın sonuna doğru gelişmemiş yapılar olan pronefrozların kaudalinde ortaya çıkan mezonefrozlar bir hayli genişlemiş ve uzamış boşaltıcı organlardır. İyi gelişmiş bu yapılar kalıcı böbrekler oluşuncaya kadar, yaklaşık 4 hafta boyunca interim (ara) böbrekler olarak embriyoda fonksiyon görürler. Kalıcı böbreklerin primordiyumları metanefrozlar, 5. haftanın başında gelişmeye başlarlar ve 4 hafta sonra fonksiyonel hale gelirler (4).

Gonadal gelişimin ilk safhaları 5. haftada ortaya çıkar, mezonefrozun medialinde , mezotelde bir kalınlaşma meydana gelir. Parmak şeklindeki gonadal kordonlar altındaki mezenşim içerisine doğru kısa sürede büyürler. Farklanmamış gonad şimdi, dışta yer alan bir korteks ve içte yer alan bir medulladan oluşmaktadır. Eğer embriyo XX seks kromozom kompleksine sahipse, farklanmamış gonadın korteksi overe differensiye olur ve medullası geriler. Embriyo XY kromozom kompleksini içermekteyse medulla testise farklanır, korteks bir takım kalıntıları dışında geriler ve dejenere olur (4).

Her ne kadar embriyonun genetik ve kromozomal cinsiyeti ovumu dölleyen sperm çeşidi ile fertilizasyon sırasında belirleniyorsa da, erkek ve dişi

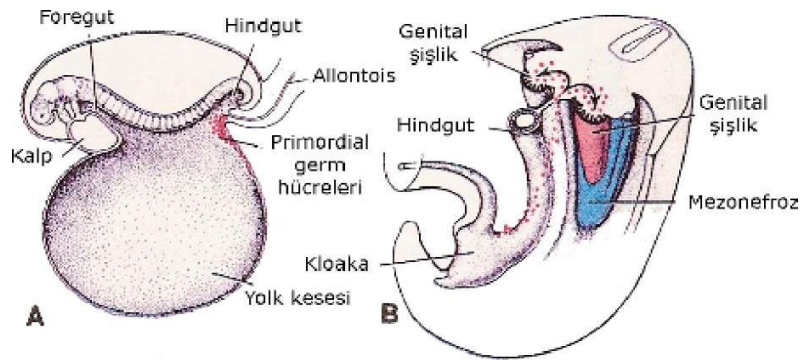
karakteristikleri embriyonik 7. haftaya kadar gelişime başlamazlar. Oldukça geniş, sferikal seks hücreleri, 4. hafta başında umblikal kese (yolk ya da vitellüs kesesi) duvarında, allantoisin başlangıç yerine yakın, endodermal hücreler arasında ortaya çıkarlar. Embriyonun katlanmaları sırasında vitellus kesesinin dorsal parçası embriyo içerisine dahil olur. Bu olurken primordiyal germ hücreleri, arka bağırsağın dorsal mezenteri boyunca gonadal kabarıntılara göç eder. 6. hafta sırasında primordiyal germ hücreleri altındaki mezenşim içerisine girerler ve gonadal kordonlara dahil olurlar (4).



Şekil 2. A. Génital kabarıklık ve mezonefroz arasındaki ilişkiyi gösteren çizim. B. Mezonefroz ve genital kabarıklıktan A'da belirtilen seviyeden geçen transvers kesit (3).

Kromozomal ve genetik cinsiyet, X kromozomuna bağlı ovumun X veya Y kromozomu taşıyan sperm ile fertilizasyonuna bağlıdır. 7. haftadan önce gonadların görünümü her iki cinsten de birbirine benzer, dolayısıyla ‘‘farklanmamış gonadalar’’olarak adlandırılırlar. Y kromozomu tarafından düzenlenen Testis Belirleyici Faktör (Testis determining Factor)- TBF testiküler farklılaşmayı sağlamaktadır. TBF geni Y kromozomunun kısa kolu üzerindeki

cinsiyet belirleyen bölgede (Sex determining region of the Y chromozom, SRY) yerleşiktir. TBF, primitif seks kordonlarındaki hücrelerde sentezlendiğinde taslak gonadlar testise farklılaşır. TBF, gonadal kordonları uyararak farklılaşmamış gonadın medulla derinliklerine doğru uzamasına neden olur, kordonlar burada dallanarak anastomoz yaparlar ve böylece rete testis oluşur. Gonadal kordonların (seminiferöz kordonların) kalın fibröz kapsülü olan tunika albugenia geliştikten sonra yüzey epiteli ile olan bağlantıları kaybolur. 16. haftada gonadal kordonlar at nalı biçimini alırlar ve uç noktaları birleşerek tubuli rektleri yaparlar. Gonadal kordonları bu evrede ilkel cinsiyet hücrelerini ve sölom epitelinden köken alan sertoli hücrelerini içerir. Fetal testiste sertoli hücreleri Antimüllerian hormonu (AMH) salgılar. Bu hormonun salınımı puberteye kadar devam eder ve paramezonefrik duktusların gelişimini baskılar. Gonadal kordonlar arasındaki mezenşimde ise Leydig hücreleri bulunur. 8. haftadan itibaren Leydig hücreleri, androjenik hormonları (testesteron ve androstenedione) salgılamaya başlar. Bu hormonlar mezonefrik kanalların ve dış genitalerin maskülin olarak farklılaşmasını uyarırlar (4,5).

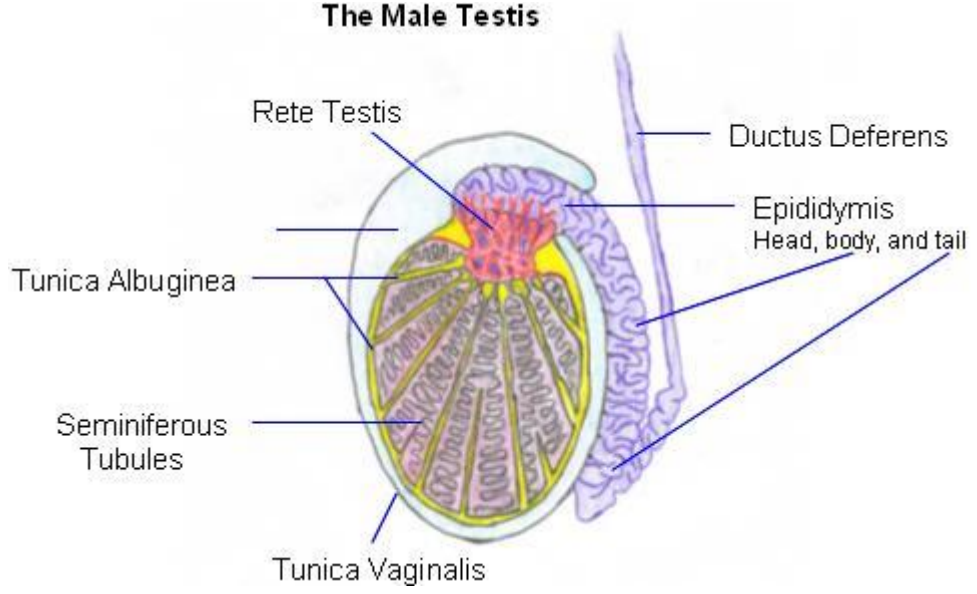


Şekil 3. Haftalık embriyoda yolk kesesi duvarında, allontois bağlantısına yakın bir yerde primordial germ hücrelerini gösteren şematik çizim. B. Primordial germ hücrelerinin, son barsak ve dorsal mezenter boyunca genital kıvrıma doğru giden göç yolu (3).

Gonodal kordonların içi puberteye kadar solid hücrelerdir. Pubertede ise lümen kazanırlar ve seminifer tübül adını alırlar. Giderek büyüyen testis, gerileyen mezonefrozdaki ayrılır ve mezorsium denen kendi mezenterisi ile asılı durur. Testis gelişmesinin son aşamasında, yüzey epiteli yassılaşılarak ergin testisin dış yüzünü döşeten tek katlı mezotelyumunu oluşturur. Rete testis, duktuli efferensi oluşturan 15-20 adet mezonefrik tübül ile devam eder. Bu tübüller duktus epididimisi oluşturan mezonefrik duktus ile bağlanırlar (4,5). Yaklaşık 26. haftada testisler posterior karın duvarından skrotuma inerler. Konumundaki bu değişme, pelvis genişlemesi ve embriyo bedeninin uzaması ile birlikte olur. Ayrıca testislerin alt kutuplarını gelişen skrotuma bağlayan ligamentum gubernakulumun testesteron salınımı ile kısalması da etkilidir. Testisler abdominal kavite ve skrotum arasında dar bir geçit olan inguinal kanaldan geçerek skrotuma inerler (4,6).

3.3. Testis Histolojisi

Testisler, embriyolojik gelişim sırasında karın boşluğunun arka duvarında retroperitoneal olarak gelişirler. Fetüsün gelişmesi sırasında göç ederler ve skrotum içine spermatik kordonların uçlarında asılı olarak bulunurlar. Skrotuma doğru bu göç nedeniyle her bir testis kendisiyle birlikte peritonu, tunika vajinalis adı verilen seröz bir kese şeklinde skrotum içine sürükler (7,8).



Şeki 4. Testis Yapısı (8).

3.3.1.Seminifer Tübüller

Her testiste yaklaşık 250-1000 semnifer tübül bulunur. Sparmatozoidler seminifer tübüllerde üretilir ve erişkindeki yapım hızı günde yaklaşık 2×10^8 dir. Her testiste yaklaşık 250-1000 seminifer tübül bulunur. Her seminifer tübül karmaşık yapıda çok katlı bir epitel ile döşeli olup, çapları yaklaşık 150-250µm ve boyları 30-70 cm'dir. Bir testisteki tübüllerin toplam uzunluğu yaklaşık 250 m'dir.

Seminifer tübüller fibröz bir bağ dokusu kılıfı, belirgin bir bazal lamina ve karmaşık bir germinal ya da seminifer epitelden oluşur. Bu bağ dokusu, bol miktarda kan ve lenf damarları ile sinirleri içerir. Seminifer tübüllerin arasındaki boşluğun büyük bölümünü interstisyel (Leydig) hücreleri doldurur (7).

Seminifer tübüller fibröz bir bağ dokusu kılıfı, belirgin bir bazal lamina ve karmaşık bir germinal ya da seminifer epitelden oluşur. Seminifer tübülü saran

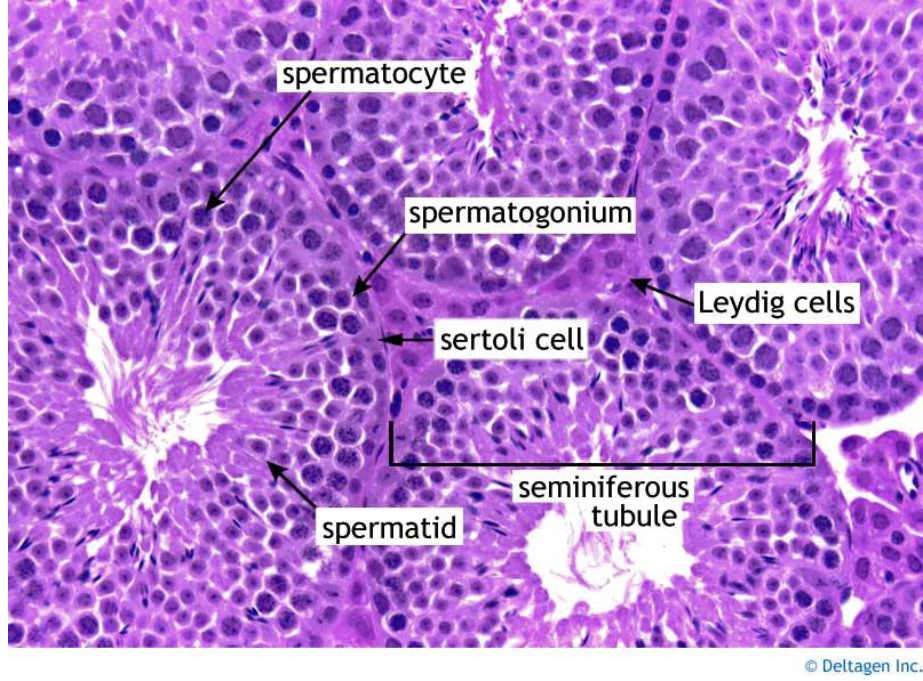
fibröz tunika propria birkaç fibroblast katmanından oluşmuştur. Bazal laminaya yapışık olan en içteki katman düz kas özellikleri de gösteren yassılaştırmış miyoid hücreler içerir. İnsanlarda seminifer tübül bazal laminasının dışında 3-5 kat miyoid hücre (peritübüler kontraktıl hücreler) ve kollagen liflerden oluşur. Ultrastrüktürel düzeyde miyoid hücreler düz kas hücrelerinin özelliği olan çok sayıda aktin filamanı içerir. Ayrıca fibroblast yokluğunda kollagen sentezlediklerini belirtecek şekilde çok sayıda granüllü endoplazmik retikuluma sahiptirler. Miyoid hücrelerin ritmik kontraksiyonları, spermatozoa ve testiküler sıvının seminifer tübüllerden boşaltıcı kanal sistemine akışına yardımcı olan peristaltik dalgalanmaları oluşturur (6,7).

Seminifer epitelde iki tip hücre vardır:

a. Spermatojenik Hücreler = Germ Hücreleri

- 1) Spermatogonyum
- 2) Primer Spermatosit (= Spermatosit 1)
- 3) Sekonder Spermatosit (= Spermatosit 2)
- 4) Spermatid
- 5) Sperm

b. Sertoli (destek) hücreleri (6,7).



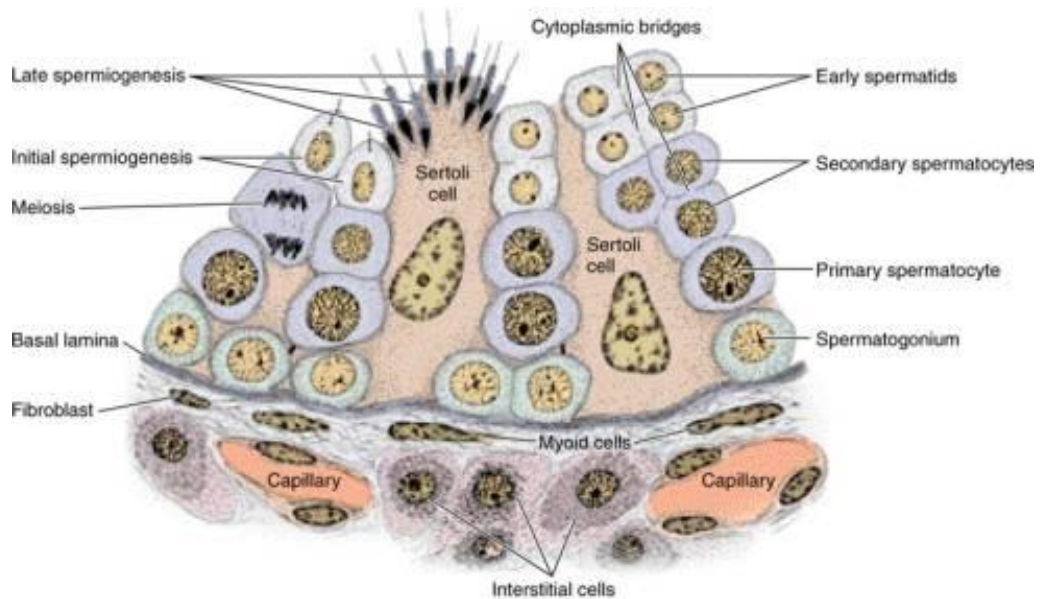
Şeki 5. Testis Dokusunun Mikroskopik Yapısı (9).

3.3.2. Sertoli Hücreleri

Spermatogenik serideki hücreleri kısmi olarak saran uzamış pramidal hücrelerdir. Bu hücreler puberteden sonra çoğalmazlar. Tabanları bazal laminaya tutunur, apikal uçları ise sıklıkla seminifer tübülün lümenine uzanır. Işık mikroskopunda sınırları belirsiz olarak görülür çünkü spermatogenik seri hücrelerini çevreleyen çok sayıda lateral uzantıları vardır. Sertoli hücreleri seminifer epitelin tüm kalınlığı boyunca yer alırlar. Geniş düz endoplazmik retikulum, iyi gelişmiş granüllü endoplazmik retikulum içerir. Bunu yanında çok sayıda küresel ve uzamış mitokondri, iyi gelişmiş Golgi cisimciği, değişen miktarlarda mikrotübüller, lizozomlar, lipid damlaları, veziküller, glikojen granülleri ve filamanlara sahiptirler. 7-9 nm kalınlığında bir filaman kılıfı nükleusu sitoplazmik organellerden ayırır. Hücrenin çok aktif olduğunu gösteren

ökromatik nükleus genelde oval ya da üçgen şekillidir ve bir ya da birkaç derin katlantıya sahiptir (6).

Bitişik Sertoli hücreleri birbirlerine spermatogonyumlar seviyesinde sıkı bağlantılarla bağlanmışlardır. Yan yana bulunan sertoli hücreleri, hücrenin alt yüzlerinde engelleyici sıkı bağlantılarla (tight junction) birbirlerine tutunarak Kan-Testis Bariyerini (KTB) oluştururlar. KTB'nin transmembran bağlantı proteinleri olan OCLN –occludin, CLDN1-claudin-1, F11R -junction adhesion moleküle-1(JAM-1), CDH2-N cadherin, PVRL-nectin, yapı proteinleri aracılığıyla (TJP1-zonula okludens-1(ZO-1), CATN- catenin ve AF6- afadin) aktin flamanlarına tutunur (10). Spermatogonyumlar, bu bariyerin altında yer alan bazal bölmede yerleşmişlerdir. Spermatogenez sırasında spermatogonyumların bölünmesi sonucu oluşan bazı hücreler bu bağlantı noktalarından bir şekilde geçerek, bariyerin üzerinde yer alan adluminal bölmeğe ulaşırlar (7). Bu bağlantılar geliştirmekte olan spermatositleri ve spermatidleri otoimmün reaksiyonlardan korurlar (11).



Şekil.4. Şematize Tubulus Seminiferus Kontortus (12).

Sertoli hücreleri ‘‘aralık bağlantıları’’(gap junction) adı verilen birleşmelerle de bağlanmıştır; bu yolla hücrelerin iyonik ve kimyasal alışverişi sağlanır.

Sertoli hücrelerinin birkaç işlevi vardır:

- Gelişmekte olan spermatazoonların desteklenmesi, korunması ve beslenmesinin düzenlenmesi.
- Spermiyogenez sonunda spermatidler tarafından atılan rezidüel cisimcikleri fagosit eder (11)
- Salgilama (Androjen-bağlayıcı protein üretimi, testesteronun yoğunlaştırılması, inhibin ve inhibin salgılanması)
- Anti-Müllerian hormon üretimi
- Kan-Testis Bariyeri (KTB).
- İnhibin B üretimi (7, 11).

3.3.3. İnterstisyel Doku (Leydig Hücreleri)

Testislerde seminifer tübüllerin arasındaki bağ dokusu değişik tipte hücreler içerir; bunlar arasında fibroblastlar, farklılaşmamış bağ dokusu hücreleri, mast hücreleri ve makrofajlar bulunur. Ergenlikte başka bir tip hücre daha işlevsel olarak belirgin hale gelir. Bu yuvarlak ya da çokgen şekilli, çekirdeği merkezde ve küçük lipid damlacıklarından zengin eozinofilik sitoplazması bulunan bir hücredir. Bu hücreler, testisin interstisyel ya da Leydig hücreleridir ve steroid salgılayan hücre özelliklerini gösterir. Lipofuksin pigmenti ve çubuk şekilli sitoplazmik kristaller olan Reinke kristalleri de bu hücrelerde bulunurlar. Diğer steroid sentezleyen hücreler gibi Leydig hücreleri de çok sayıda düz endoplazmik

retikulum içerirler. Testosteron sentezi için gerekli olan enzimler de düz endoplazmik retikulumla ilişkilidir. Tübüloveziküler kristal mitokondri de steroid sentezleyen hücrelerin özelliğidir ve Leydig hücrelerinde bulunurlar. Leydig hücreleri erken fetal hayatta farklılaşırlar ve testosteron salgılamaya başlarlar. Testosteron salgılanması, embriyonik gelişim, seksüel olgunlaşma ve üreme fonksiyonu için gereklidir. Leydig hücreleri erkek fetüsün erken farklılaşma döneminde aktiftir ve fetal hayatın 5. ayından itibaren inaktif bir periyoda girerler. İnaktif Leydig hücrelerini fibroblastlardan ayırt etmek güçtür. Pubertede gonadotropik stimülasyona uğrayan Leydig hücreleri yeniden androjen salgılayan hücreler haline gelirler ve yaşam boyu aktif kalırlar (6,7).

3.3.4. Spermatogenez

Spermatogenez, spermatozoon üretim sürecidir. Süreç ilkel bir üreme hücresi olan spermatogonyum ile başlar. Spermatogonyum, yaklaşık 12 µm çapında, bazal laminanın hemen üstünde yer alan küçük bir hücredir. Spermatogonyumlar seminifer tübülün bazal membranına bitişik yerleşim gösterirler (13,14). Cinsel olgunluk çağında spermatogonyum hücreleri mitoz bölünme ile çoğalmaya başlar ve yeni hücreler oluşur. Yeni oluşan hücreler iki yoldan birbirini izleyebilir: A tipi spermatogonyumlar olarak da adlandırılan kök hücreler olarak bölünmeyi sürdürebilir ya da sürmekte olan mitoz döngüleri boyunca farklılaşarak B tipi spermatogonyumları oluştururlar. B tipi spermatogonyumlar primer spermatositlere farklılaşan öncül (progenitör) hücrelerdir. Primer spermatositler 46 kromozom (44+XY) ve 4N DNA içerir (N haploid kromozom sayısını [insanlarada 23 kromozom] ya da bu kromozom

takımındaki DNA miktarını gösterir). Oluşmalarından hemen sonra bu hücreler birinci mayoz bölünmenin profazına girerler. Bu bölünmenin profaz aşaması yaklaşık 22 gün sürdüğünden, kesitlerde görülen spermatositlerin çoğu bu aşamada izlenecektir. Primer spermatositler spermatogenik serinin en büyük hücreleridir ve çekirdeklerinde, sarmatlanma sürecinin değişik aşamalarındaki kromozomların bulunması ile tanınırlar. Birinci mayoz bölünmeden sonra sekonder spermatositler olarak adlandırılan yalnızca 23 kromozom (22+X veya 22+Y) içeren daha küçük hücreler oluşur. Kromozomların sayısındaki bu azalmaya (46'dan 23'e) her hücredeki DNA miktarının eksilmesi (4N'den 2N'ye) eşlik eder. Testis kesitlerinde sekonder spermatositlerin gözlenmesi zordur, çünkü bunlar interfazda çok kısa süre kalan ve çabucak ikinci mayoz bölünmeye giren kısa ömürlü hücrelerdir. Sekonder spermatositlerin bölünmesi 23 kromozom içeren iki hücrenin yani spermatidlerin oluşması ile sonuçlanır. Spermatositlerde birinci ve ikinci mayoz bölünmeler arasında S fazı (DNA sentezi) görülmediği için ikinci bölünmeden sonra her hücredeki DNA miktarı yarı yarıya iner ve haploid (N) hcreler meydana gelir. Böylece, mayoz bölünme sürecinin sonunda haploid sayıda kromozom içeren hücreler oluşur. Döllenme ile bunlar normal diploid sayıya dönerler (14,15).

3.3.5. Spermiyogenez

Spermiyogenez spermatozoon üretiminin son aşaması ve spermatidlerin, erkek DNA'sını ovuma aktarmak için son derece özelleşmiş hücreler olan spermatozoona dönüşme sürecidir. Bu süreçte hücre bölünmesi gerçekleşmez. Spermatidler, küçük boyutları (7-8 μm çapta), yoğunlaşmış kromatin bölgeleri

içeren nükleusları ile ayırt edilebilirler. Seminifer tübüllerde lümen yakınında (jukstaluminal) yerleşmişlerdir. Spermiyogenez, akrozom oluşumunu, çekirdek yoğunlaşmasını ve uzamasını, kamçı genişlemesini ve sitoplazmanın büyük bir bölümünün kaybolmasını içeren karmaşık bir süreçtir. Sonuçta, daha sonra seminifer tübül lümenine bırakılan olgun spermatozoon oluşur (13).

Spermiyogenez üç evreye ayrılabilir:

3.3.5.1. Golgi Fazı

Spermatidin sitoplazması, çekirdeğin yakınında yer alan belirgin bir Golgi kompleksi, mitokondrionlar, bir çift sentriyol, serbest ribozomlar ve düz endoplazma retikulumu tübüllerini içerir. Proakrozomal granüller olarak adlandırılan PAS- pozitif küçük granüller Golgi kompleksinde birikir ve daha sonra birleşerek zarla sınırlı bir akrozom vezikülünün içinde yer alan tek bir akrozom granülü oluştururlar. Sentriyoller göç ederek, oluşan akrozomun karşı tarafında hücre yüzeyine yakın bir konuma yerleşirler. Kamçı aksonemi oluşmaya başlar, sentriyoller yeniden çekirdeğe doğru göç ederken hareket ettikçe aksonem bileşenleri çevresine sarılır (13).

3.3.5.2. Akrozomal Evre

Akrozom vezikülü ve granülü yoğunlaşan çekirdeğin ön yarısını kaplayacak şekilde yayılır ve bundan sonra akrozom adını alır. Akrozom, hiyalüronidaz, nöraminidaz, asit fosfataz ve etkisi tripsine benzer bir proteaz gibi bazı hidrolitik enzimler içerir. Akrozom bu yüzden özelleşmiş bir lizozom gibi

işlev görür. Bu enzimlerin oositleri çevreleyen korona radyata hücrelerini birbirinden ayırdığı ve zona pellusidayı sindirdiği bilinmektedir (13).

Spermiyogenezin bu evresinde, spermatid seminifer tübülün tabanına doğru yönelir ve aksonem lümenine doğru uzanır. Ayrıca, çekirdek uzar ve daha yoğun bir hale gelir. Aynı zamanda sentriyollerden gelişerek kamçıyı oluşturur. Mitokondriyumlar da kamçının proksimal kısmı etrafında toplanarak orta parça adı verilen kalınlaşmış bölgeyi oluşturur. Bu bölge, spermatozoon hareketlerinin enerji kaynağını oluşturur. Mitokondriyumların bu şekilde yerleşmesi bu organellerin hücre hareketi ile ilgili ve enerji tüketimi yüksek olan bölgelerde yoğunlaşmasını açıklar. Kamçı hareketi, mikrotübüller, ATP ve dinein denilen ATPaz aktivitesine sahip bir protein etkileşmesi sonucunda oluşur.

3.3.5.3. Olgunlaşma Evresi

Geriye kalan artık sitoplazma Sertoli hücreleri tarafından fagosit edilir ve spermatozoonlar tübülün lümenine bırakılırlar (13).

3.4. Sitokinler

3.4.1. Tanım

Sitokinler bağışıklık sisteminin işlevini düzenleyen, düşük molekül ağırlıklı (8 ile 80 kDa arasında) peptid ya da glikoprotein yapısında moleküllerdir. Bunlar, hem hücresel hem de humoral bağışıklık yanıtlarını tetikler. Mikroorganizmalarca uyarılan makrofajlar ve diğer hücreler sitokinler olarak tanımlanan, doğal direnç kapsamında gerçekleşen hücresel reaksiyonları yönlendiren proteinleri salgırlar. Lökositlerin kendi aralarında ve diğer

hücrelerle iletişimde rol oynayan sitokinler bağışık yanıt ile inflamasyonu düzenleyen çözülmüş proteinlerdir (16,17).

3.4.2. Tarihçe

Keşfedilen ilk sitokin alt grubu olan interferonlar ilk defa 1957 yılında Isaacs ve Lindenman tarafından keşfedilmiştir (18). Sitokinler içinde önemli bir grup mediatör olan interlökinler (interleukin) ise ilk olarak 1940 yılında “lökositik pirojen” olarak tanımlanmış (19), tıbbi literatüre 1979 yılında girmiştir. “Koloni stimüle edici faktör” terimi ise 1966 yılında Bradley ve Metcalf’ın çalışmaları ile ortaya çıkmıştır. Sitokinler hakkında bilgilerimiz Oppenheim’in çalışmaları ile 1975 yılından itibaren hızla gelişmeye başlamıştır (18).

3.4.3. Etkileri ve Üretildiği Yerler

Sitokinlerin yerel etkileri; endotel hücresi aktivasyonu ile adezyon molekülü ekspresyonu, lökosit endotel yapışması ve etkileşimi, lökositlerin endoteli geçip inflamasyon bölgesine kemotaksisi, lökosit aktivasyonu (hücrede solunumsal patlama, serbest oksijen radikalleri salınımı, degranülasyon, fagositoz ve sitotoksik aktivasyonu), prokoagulan aktivite, sitokin sentezini yeniden aktive etme, endojen mediatör salınımı; sistemik etkileri ateş, akut faz reaksiyonu, spesifik olmayan konakçı reaksiyonu ile ilişkili koloni stimulan faktör artışı, NK aktivasyonu, T hücre çoğalması, B hücre aktivasyonu, sitotoksik T hücre artışıdır (20).

Enfeksiyon hastalıklarında, hematopoezde, hücreler arası etkileşimde, hücre farklılaşması ve aktivasyonunda, embriyogenez-organ gelişiminde ve

immün cevabın düzenlenmesinde önemli biyolojik rolleri vardır. İmmün yanıtta rol alan lenfoid, hematopoetik ve inflamatuvar hücreler arasındaki ilişki de sitokinlerce sağlanır.

Sitokinler mitoz, farklılaşma, hücre göçleri, hücre yaşamı ve hücre ölümü olaylarında düzenleyicidirler (21). Sitokinlerin hücre metabolizması üzerinde parakrin veya otokrin etkileri bulunmaktadır. Sitokinler kondrosit bölünmesini, matriks sentezini ve yıkımını geriletebilir veya arttırabilirler. Tek bir sitokin diğerinin etkisini başlatabilir veya antagonize edebilir (22). Sitokinler karakteristik olarak çoklu ve birbirlerinin içine geçen biyolojik aktiviteye sahiptirler ve hem kendileri hem de diğer sitokinler için reseptörlerin yapımı ve ekspresyonunu sağlarlar. Genellikle meydana gelen sitokinlerin spektrumu, immün cevabın şiddeti, süresi ve karakterini belirler (23).

Sitokinler lenfositler, makrofajlar ve lökositler başta olmak üzere bağışıklık sistemi hücreleri tarafından üretilmektedirler. Bunlara ek olarak endotel hücreleri ve fibroblastlar gibi başka hücre tipleride sitokin üretimi yapmaktadır (24). Doğal bağışık yanıtta, sitokinler esas olarak makrofajlar tarafından üretilirken, edinsel immün yanıtta ise T hücreleri tarafından üretilirler (16).

Sitokinlerin kaynaklarına ve efektör işlevlerine göre şöyle sınıflandırılmıştır (25):

1. İnterlökinler (Lenfokinler, IL)
2. Koloni stimüle edici faktörler
3. Tümör nekrotize edici faktörler (TNF)
4. İnterferonlar (IFN)
5. Diğer sitokinler

Bunlara ek olarak büyüme faktörleri: Epidermal büyüme faktörü, EGF; Platelet orijinli büyüme faktörü, PDGF; insülin benzeri büyüme faktörü-1, IGF-1; İnsülin benzeri büyüme faktörü-2, IGF-2; Sinir büyüme faktörü, NGF; Asidik fibroblast büyüme faktörü, aFGF; Basık fibroblast büyüme faktörü, bFGF; Neurolökin; Amfiregulin; Hepatosit büyüme faktörü, HGF’de sitokinler arasında yer alır (25).

Tablo 1. İnterlökin Grubu

İNTERLÖKİNLER	KAYNAK	EFEKTÖR İŞLEVİ
IL-1A/α IL-1B/β	Mono, MΦ, DC, NK, B, Endo	IL-2 ve onun reseptörü de dahil sitokin üretimini artırarak T hücre uyarımına katkıda bulunmak; B hücresinin çoğalmasını ve olgunlaşmasını artırarak, NK sitotoksitesini sağlamak, MΦ ‘dan IL-1,6,8, TNF, GM-CSF ve PG2 salgılanmasını uyarmak; endotele kemokinle, ICAM-1 ve VCAM-1 üretimini uyarak proinflamauar etki göstermek, ateşi yükseltmek, APP salgısını artırmak, osteoklastları uyarak kemik yıkımını artırmak.
IL-2	Th1	Uyarılmış T ve B hücrelerini uyarak; NK sitotoksitesini artırarak ve tümör hücreleri ile bakterilerin monositler ve makrofajlar tarafından öldürülmesini sağlamak.
IL-3	T, NK, MC	Hematopoetik öncüllerin gelişim ve başkalaşımını sağlamak; MC gelişimini sağlamak.
IL-4	Th2, Tc2, NK T,MC	Th2 hücreleri uyarmak; uyarılmış T B ve MC çoğalmasını uyarmak; B hücrelerinde ve makrofajlarda MHC klas II üretimini arttırmak, B hücrelerinde CD23 üretimini arttırmak; IL-12 üretimini azaltarak Th1 başkalaşımını baskılamak; makrofaj fagositozunu arttırmak; IgG1 ve IgE’ye dönüşümünü uyarmak.
IL-5	Th2,MC	Eozinofil ile uyarılan B hücre çoğalmasını uyarmak; IgA’ya dönüşümünü uyarmak.
IL-6	Th2, mono, MΦ, DC, BM stroma	Miyeloid kök hücrelerinin ve B hücrelerinin plazma hücrelerine başkalaşımını sağlamak; APP salınımını uyarmak; T hücresi çoğalmasını uyarmak.
IL-7	BM ve timik stroma	Lenfoid kök hücrelerinin T veB öncüllerine başkalaşmasını uyarmak; olgun T hücresi uyarımını sağlamak.
IL-8	Mono, MΦ, endo	Nötrofillerin uyarılması ve kemotaksisini sağlamak.
IL-9	Th	Timositlerin çoğalmasını uyarmak, MC gelişimini arttırmak, IgG1 ve IgE’ye dönüşümünde IL-14 ile sinerjistik çalışmak.

IL-10	Th (farede Th2),TC, B, mono, MΦ	Fare Th1 hücrelerinde IFN γ , insan Th1 hücrelerinden IL-2 salgılanmasını baskılamak; monosit, makrofaj ve DC'de MHC klas II ve sitokin (IL-12 de dahil) üretimini azaltarak Th1 başkalaşmasını baskılamak; T hücresi çoğalmasını baskılamak, B hücresi başkalaşmasını sağlamak.
IL-11	BM stroma	Pro-B ve megakaryositlerin başkalaşmasını uyarmak; APP salınımını uyarmak.
IL-12	Mono, MΦ, DC, B	Th1 başkalaşması için kritik sitokindir. Th1, CD8+, NK hücrelerinden IFN γ üretimini ve çoğalmayı uyarmak; NK ve CD8+ T sitotoksitesini arttırmak.
IL-13	Th2, MC	Makrofajların sitokin salgılamasını ve uyarımını baskılamak; B hücresi çoğalmasına yardımcı olmak; endotel hücrelerinde sitokin üretimini uyarmak.
IL-15	T, NK, mono, MΦ, DC, B	T, NK ve uyarılmış B hücrede çoğalmayı uyarak; NK ve CD8+ T hücrelerinde sitokin üretimini ve sitotoksiteyi uyarmak; T için kemotaktik görevi yapmak; barsak epitelyum gelişimini uyarmak.
IL-16	Th, Tc	Monosit, eozinofil ve CD4+ T lenfositler için kimyasal çekim görevi yapmak; MHC klas II üretimini uyarmak.
IL-17	T	Proinflamatuvar sitokindir; TNF, IL-1 β , 6, 8, G-CSF dahil sitokin üretimini uyarmak.
IL-18	MΦ, DC	T hücresinin IFN γ üretimini arttırmak; NK sitotoksitesini arttırmak.
IL-19	Mono	Th1 aktivitesini düzenlemek.
IL-20	Mono, keratonositler	Deride inflamatuvar yanıtı düzenlemek.
IL-21	Th	Hematopoezi düzenlemek; NK başkalaşımını sağlamak; B uyarımını sağlamak; T uyarımına yardımcı olmak.
IL-22	T	Th2 hücrelerinde IL-4 üretimini baskılamak.
IL-23	DC	Th1 hücrelerinde çoğalmayı ve IFN üretimini arttırmak; hafıza hücrelerinin çoğalmasını sağlamak.
IL-24	Th2, mono, MΦ	TNF, IL-1 ve IL-6'nın tümöre karşı aktivitelerini uyarmak.
IL-25	Th1, MΦ, mast	IL-4, IL-5, IL-13 ve Th2'nin rol aldığı patolojileri uyarmak.
IL-26	T, NK	Epitelyum tarafından aşırı IL-8 ve IL-10 üretiminin yapılmasına neden olmak.
IL-27	DC, mono	Th1 yanıtını uyarmak, IFN üretimini arttırmak.
IL-28	Mono, DC	Tip 1 IFN benzeri etki göstererek viral replikasyonu baskılamak.
IL-29	Mono, DC	Tip 1 IFN benzeri etki göstererek viral replikasyonu baskılamak.
IL-31	T	Deride inflamatuvar yanıtı uyarmak.
IL-32	NK, T	İnflamasyonu uyarmak, uyarımın neden olduğu T hücre apoptozisinde rol almak.
IL-33	DC, MΦ	IL-4 ve IL-13 üretimini uyarmak.

* IL-14 bulunmadığına dikkat ediniz. Önceden verilmiş bu numara ile belirlenen aktivitenin tek bir sitokine mal edilemeyeceği daha sonraki araştırmalarla şüpheye yer bırakmayacak şekilde ortaya konmuştur. IL-30 onay beklemektedir (25).

Tablo 2. Koloni Stimüle Edici Faktörler Grubu

KOLONİ SİTÜMÜLE EDİCİ FAKTÖRLER	KAYNAK	EFEKTÖR ETKİ
GM-CSF	Th, MΦ, fibro, endo	Monosit, nötrofil, eozinofil ve bazofil öncüllerinin gelişimini uyarmak, makrofajları uyarmak.
G-CSF	Fibro, endo	Nötrofil öncüllerinin gelişimini uyarmak.
M-CSF	Fibro, endo, epit.	Monosit üretimini ve gelişimini uyarmak.
SLF	BM stroma	Kök hücre büyümesini uyarmak.

Tablo 3. Tümör Nekrotize Edici Faktörler Grubu

TÜMÖR NEKROTİZE EDİCİ FAKTÖRLER	KAYNAK	EFEKTÖR ETKİLERİ
TNF (TNF α)	Th, mono, MΦ, DC, MC, NK, B	Tümöre sitotoksik etki göstermek; kaşeksi; sitokin salımı uyarmak; endotelde E- selektin üretimini arttırmak; MΦ uyarmak, antiviral etki göstermek.
Lenfotoksin (TNF β)	Th1, Tc	Tümöre sitotoksik etki göstermek; makrofaj fagositozunu arttırmak; lenfoid organ gelişimine katkıda bulunmak; antiviral etki göstermek.

Tablo 4. İnterferonlar Grubu

İNTERFERONLAR	KAYNAK	EFEKTÖR ETKİ
IFN α	Lökositler	Viral replikasyonu baskılamak; MHC klas I üretimini arttırmak.
IFN γ	Fibroblastlar	Viral replikasyonu baskılamak; MHC klas I üretimini arttırmak.
IFN β	Th1, Tc1, NK	Viral replikasyonu baskılamak; MHC klas I ve II makrofajları uyarmak; IgG2 dönüşümünü uyarmak; IL-4 'ün bazı etkilerini antagonize etmek; Th2 çoğalmasını baskılamak.

Tablo 5. Diğer Sitokinler

DİĞERLERİ	KAYNAK	EFEKTÖR ETKİLERİ
TGF- β	Th3, B, M Φ , MC	Monosit ve makrofajlara kimyasal çekim etkisiyle proinflamatuvar ancak lenfosit çoğalmasına örneğin baskılayıcı etkisiyle anti- inflamatuvar; IgA dönüşümünü uyarıcı etki göstermek; doku tamirini uyarıcı etki göstermek.
LIF	Timik epit, BM stroma	APP salgısını uyarmak.
Eta -1	T	Makrofajlarda IL-2 üretimini yarmak; IL-10 üretimini baskılamak.
Onkostatin	T, M Φ	APP salgısını uyarmak.

****Kısaltmalar:** BM: kemik iliği, GM-CSF: Granülosit- Makrofaj Koloni Stimüle Edici Faktör, LIF: Lösemi İnhibe Edici Faktör, M Φ : Makrofaj, MC: Mast Hücre, SLF: Sağlam Lokus Faktörü, Epit: Epitelyum, T : T Hücre, B: B Hücre, Mono: monosit, NK: Doğal Öldürücü, DC: Dendritik Hücre, Endo: Endotel (25).

3.4.4. İnterlökin

3.4.4.1. Tanım

İnterlökin, ilk kez görüldükleri beyaz kan hücreleri lenfositlerince ekspresse edilen gizli sinyalleme molekülleri olan sitokinlerin bir grubudur. Adı, lenfositlerden lökin ve haberleşme anlamında inter-den gelir. Keşfedildikleri günden beri çeşitli vücut hücrelerince üretildikleri bilinmektedir. Bağışıklık sisteminin geniş kısmı interlökinlere bağlıdır ve nadir bulunan hastalıklarda bazıları tanımlanmışlardır. Bazıları eklem inflamasyonunu tetiklemede önemli rol oynarlar. İnterlökin ailesi makrofajlar ve T-lenfositlerden salınır. B-lenfositlerini olgunlaşmak ve farklılaşmak için uyarır. İmmünglobulin metabolizmasını B-lenfosit üzerinden hızlandırır (26).

3.4.4.2. İnterlökin-1 (IL-1) Ailesi

Proinflamatuvar bir sitokin olan IL-1, inflamasyon ve immünolojik yanıtı başlatır (27). Hem insanda hem de tavşanda ateşi indükleyen etkileri nedeniyle ‘‘endojen pirojen’’olarak tanımlanır (28). IL-1 hem germ hücre hem de immatür Leydig hücre proliferasyonu (29) ve erişkin Leydig ve Sertoli hücre fonksiyonunun ayarlanmasında (30) etki gösterir. IL-1, IL-1 alfa (IL-1A/IL-1 α) ve IL-1beta (IL-1B/IL-1 β) olmak üzere iki ligandan meydana gelir. Bu iki ligand yüksek homolojisi vardır ve biyolojik aktiviteleri ayırt edilemez (31-35). Hem IL-1A hem IL-1B serbest başlangıç proteinleri gibi sentezlenir. IL-1’in her iki formu da uyarılmadıkça hücre içinde kalır. Pro-IL-1 B, IL-1B değıştirici enzim tarafından enzimatik olarak yarılanmadıkça biyolojik olarak inaktiftir (36).

Hem IL-1A hem de IL-1 B iki primer reseptöre bağlanır; bunlar tip I ve tip II olarak adlandırılır. IL-1 tip I reseptör (IL-1RI) kompleks bir şekilde IL-1 reseptör aksesuar protein (IL-1RAcP) ile ilişkiye girer ve daha fazla IL-1 ile arabuluculuktan sorumludur. Zıt olarak IL-1R tip II (IL-1RII)’nin intrasellüler sinyal alanı yoktur ve IL-1 bağlandığı zaman sinyal başlatmaz. Böylece IL-1RII tuzak reseptör etkisi gibi vazife görür (37, 38). IL-1 tip I reseptörü, T hücreleri, fibroblast, monosit, sinovyal hücre, keratinosit, endoteliyal hücre ve kondrositlerde eksprese olur. Tip - 2 IL -1 reseptörü ise B hücreleri, makrofaj ve nötrofillere eksprese olur. Bu reseptörlerin ortaya çıkması inflamasyon ve hasar esnasında meydana gelen faktörler tarafından kontrol edilmektedir. IL-1A ve IL-1B üreten bazı hücreler ailenin üçüncü üyesini sentezler. Bu IL-1 reseptör antagonistidir. Doğal bir rekabet edicidir. IL-1Ra, üç intrasellüler (icIL-1Ra1, icIL-1Ra2, icIL-1Ra3) ve bir sekrete edilen isoform (sIL-1Ra)’u içerir. IL-

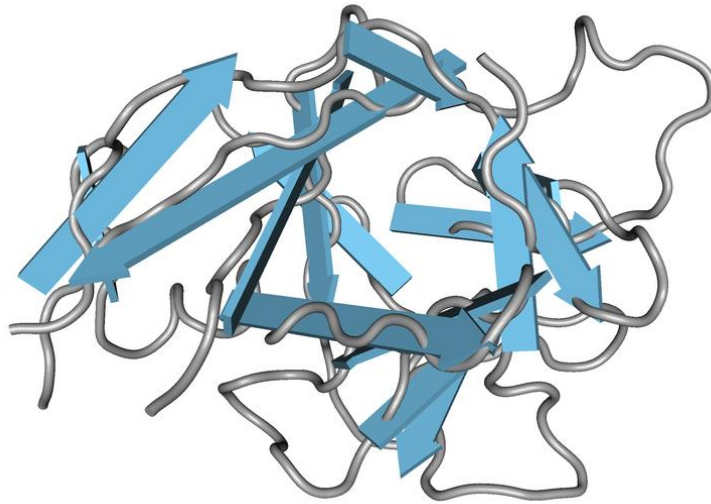
1Ra'nin IL-1RI'e bağlanması ile sinyal üretimi başlamaz ve IL-1 sinyali önlenir. Rakip olarak IL-1 bağlanma yanıtı inhibe olur (39).

IL-1A ve IL-1B'dan sonra tespit edilen IL-1 ailesinin üçüncü agonist üyesi IL-18'dir. Sinyal başlatan IL-18RAcP ile bir kompleks form oluşturur ve IL-18 reseptörlerine bağlanarak etki eder (40). Son zamanlarda, IL-1 ailesine birbirini izleyen homoloji, üç boyutlu şekillendirme ve uygun reseptöre bağlanma temelinde ilave edilen 6 üyesi daha tespit edildi (41). Yeni ligandlar IL-1 ailesi gibi sistematik olarak isimlendirildi, üyeler sırasıyla 5 (IL-1F5), IL-1F6, IL-1F7, IL-1F8, IL-1F9 ve IL-1F10'dur. Ayrıca IL-1 α , IL-1 β , IL-1Ra ve IL-18 sırasıyla IL-1F1, IL-1F2, IL-1F3 ve IL-1F4 olarak isimlendirildi (42). Ancak ailenin eski üyelerinden hala orijinal isimleri ile bahsedilmektedir. Ek olarak IL-33'den de IL-1 ailesinin bir üyesi gibi bahsedilir (43).

İnteristisyumda bulunan Leydig hücreleri ve testiküler makrofajların tercihen IL-1'in beta formunu ürettiği bilinmektedir. Sertoli hücrelerinin ise özellikle IL-1'in alfa formunu salgıladığı görülmüştür (44-46). Germ hücreleri ve Sertoli hücrelerinde IL-1Ra varlığı kanıtlanmıştır (47). Spermatogoninin mayotik DNA sentezi ve IL-1 seviyesi arasında bir korelasyona işaret edilmiştir (48). Gonadotropin ve steroid hormonların yanı sıra lipopolisakkaridler (LPS) gibi enfeksiyon situmulan maddeler seminifer tubular hücrelerde IL-1 seviyesinin değiştiği gösterilmiştir (44, 49). Böylece IL-1'in fizyolojik ve enfeksiyon düzenleyici otokrin ve parakrin fonksiyonlara katıldığı düşünülmüştür. Çeşitli çalışmalar, IL-1'in spermatogenez ve spermiyogenezin düzenlenmesini engellediğini göstermiştir (48, 50). IL-1 reseptörleri fare testisinde tespit, karakterize ve lokalize edilmektedir (44). IL-1 Leydig hücrelerinin serbest

testesteron seviyesini değiştirdiği ve transferin gibi Sertoli hücre aktivite parametrelerinde etkili olduğu bulunmuştur (51, 52). IL-1 seviyesi ve spermatogonianın mayotik DNA sentezi arasında bir ilişki gösterilmiştir (48). IL-1 ve diğer sitokinler LPS'lere yanıtta ağırlıklı olarak monosit ve makrofajlar tarafından üretildiği bilinmektedir (53). IL-1Ra Sertoli hücrelerinde IL-1A'nın etkilerini tersine çevirebilecek kapasiteye sahiptir (54). Olgun sertoli hücreleri IL-1A retme ve salgılama yeteneğine sahiptir (55). Hücre içi IL-1A transferin sentezi, hücre bölünmesi ve çoğalması gibi Sertoli hücre fonksiyonlarını etkilediği bilinmektedir (51, 52, 56). IL-1A membran proteazı denedi kalpain etkisi ile bir bölünme geçirir ve sonrasında membran üzerinde sunulabilir hale gelir. Bu yüzden, Sertoli hücrelerinde üretilen IL-1A'nın germ hücrelerine komşu olduğu dikkate alınmalıdır (53).

3.4.4.3. İnterlökin-1 Alfa (IL-1 α , IL-1A)



şekil 7. IL-1A'nın şematize sarmal yapısı (57).

3.4.4.3.1. Diğer İsimleri

IL-1A, fibroblast aktive edici faktör (FAF), lenfosit aktive edici faktör (LAF), B-hücre aktive edici faktör (BAF), lökosit endojen mediatörü (LEM), epidermal hücre kökenli timosit aktive edici faktör (ETAF), serum amiloid A indükleyen hepatosit stimüle edici faktör (HSP), katabolin, hemopoetin-1 (H-1), osteoklast aktive edici faktör (OAF) ve proteoliz indükleyen faktör olarak da bilinmektedir (57).

3.4.4.3.2. Sentezlenmesi ve Yapısı

IL-1A, ilk sentezlenen öncü molekülünün sinyal peptid içermemesi nedeni ile sitokin ailesinin, aynı IL-1B ve IL-18 gibi kendine özgü bir üyesidir. N-terminal aminoasitinin özgül proteazlarca uzaklaştırılması işlemi sonucunda ortaya çıkan peptid “olgun” form olarak adlandırılır. Sitoplazmik zarda bulunan, kalsiyumla etkinleştirilen bir sistein proteaz olan kalpain, IL-1A öncü molekülünün olgun forma dönüştürülmesinden birinci derecede sorumlu olan enzimdir. IL-1A’nın hem 31kDa’lık öncü molekülü hem de 18kDa’lık olgun formu biyolojik olarak etkindir (58, 59).

IL-1A’nın 31kDa’lık öncü molekülünün sentezi, translasyonları endoplazmik retikulumda olan çoğu proteinden farklı olarak hücre iskeleti yapıları (mikro-tübüller) ile birlikte gerçekleşir. IL-1A’nın üç boyutlu yapısı tümüyle beta katlantılı zincirlerden oluşan açık dipli fiçiyı benzer. IL-1A’nın olgun formunun kristal yapı analizinde iki tane IL-1 reseptörüne bağlanma yeri gösterilmiştir. Primer bağlanma yeri fiçinin açık üst kısmında yer alır, her ne kadar benzese de IL-1B’nin bağlanma yerinin eş değeri değildir (60).

3.4.4.3.2. Yapımı ve Hücresel Kaynakları

IL-1A'nın büyük kısmı epitelyal hücrelerde yapılır. Epidermiste önemli miktarda bulunur ve canlı epidermal hücrelerle stratum korneum'da eşit oranlarda dağılmıştır. IL-1A'nın sağlıklı epidermal keratinositlerde çok miktarda bulunması, cildin patojen mikroorganizmaların vücuda girmesine karşı bariyer oluşturmasını sağlayan bağışık yanıtta rol oynamaktadır (61).

IL-1A'nın fizyolojik, metabolik, immünolojik, hematopoetik çok sayıda işlevine rağmen merkezi sinir sistemi, kan ve diğer bazı dokularda bulunan hücrelerde sentezi yapılmamaktadır. Diğer pek çok hücrede ise IL-1A geninin transkripsiyonu ve öncü formunun üretimi yalnızca uyarım sonucunda yapılabilmektedir. Bu grupta yer alan hücreler fibroblastlar, makrofajlar, granülositler, eozinofiller, Mast hücreleri, bazofiller, endotel hücreleri, plateletler, monositler, myeloid hücre serileri, kan T ve B-lenfositleri, astrositler, böbrek mezengiyal hücreleri, Langerhans hücreleri, dermal dendritik hücreler, NK hücreleri, mikrogliya hücreleri ve maternal plasental hücrelerdir (62).

3.4.4.3.4. Etkileşimleri

IL-1A'nın en önemli etkileşimi TNF ile olan sinerjizmidir. Bu durum Shwartzman reaksiyonu, PGE2 sentezi, NO sentezi, sinir büyüme faktörü sentezi (NGF), insülin direnci, IL-8 ve kemokin sentezinde görülmektedir (63).

3.4.4.3.5. Düzenleyici Moleküller

IL-1A etkinliğini düzenleyen en önemli molekül IL-1Ra'dır, molar olarak IL-1A'dan 10-100 kat fazla üretilir (64). Ayrıca IL-1R tip I'in çözünür formu IL-

1A için yüksek afiniteye sahiptir, molar olarak 5-10 kat fazla üretilir. IL-10 da IL-1A sentezini baskılamaktadır (65).

3.4.4.3.6. Biyolojik Etkinlik

3.4.4.3.6.1. İn Vitro

IL-1A, hücreler üzerinde pikomolar femtomolar düzeylerindeki konsantrasyonlarda biyolojik etkinlik göstermektedir. IL-1A özellikle şu etkileri göstermektedir:

- Keratinositlerde ve makrofajlardan IL-1A sentezini uyarır.
- Prokolajen tip I ve III sentezini artırır.
- Fibroblast çoğalmasını, kolajenaz salgılanmasını, IL-6 ve G-CSF salgılanmasını artırır, hücre iskeletinin düzenlenmesini sağlar.
- Siklooksijenaz sentezini ve PGE2 salgılanmasını artırır.
- Isı şoku proteinlerinin fosforilasyonunu sağlar.
- Düz kas hücreleri ile keratinositlerin çoğalmasını sağlar, keratinositlerden diğer sitokinlerin salgılanmasına neden olur.
- Endotel hücrelerinden TNF- α salgılanmasına neden olur, osteoklastlar aracılığı ile kan kalsiyum düzeyini artırır.
- Hepatositlerden akut faz proteinleri salgılanmasını uyarır.
- CD4+ hücrelerin çoğalmasını, IL-2 salgısını artırır, CD8+ hücreleri uyarır, olgun B lenfositlerin çoğalmasını ve immunglobulin yapımını uyarır.
- Bazı tümör hücresi tipleri üzerinde öldürücü etkisi vardır.

3.4.4.3.6.2. İn Vivo

Organizmada infeksiyonun başlamsından kısa süre sonra IL-1A bağışık yanıtın bazı süreçlerini etkin hale getirir, bunlar:

- Fibroblast çoğalmasının uyarılması
- Proteaz sentezinin arttırılması sonucunda kaslarda protein yıkımı ve kan dolaşımına her tipten aminoasitin salınması ve bunların akut faz proteinlerinin yapımında kullanılması.
- Plazma bakır düzeyinin arttırılması, çinko ve demir düzeyinin azaltılması.
- Kan nötrofil sayısının arttırılması.
- Lenfositlerin aktive edilmesi ve ateş oluşumu.
- Topikal olarak uygulanan IL-1A FGF ve EGF yapımını uyararak fibroblast ve keratinosit çoğalmasını arttırmakta sonuçta yara iyileşmesini hızlandırmaktadır.
- IL-1A'nın muhtemelen hemopoetin-1 etkinliği sonucunda fareleri ölümcül dozda gamma radyasyonuna karşı koruduğu da bilinmektedir (66).

3.4.4.3.7. Farmasotik Uygulamaları

Otolog kemik iliği veya kök hücre nakli yapılan hastalarda kullanılan IL-1A trombositopeniyi kontrol grubuna göre erken dönemde düzeltmektedir. IL-1A'nın tümörlerde adjuvan olarak kullanımına ilişkin güncel klinik çalışma yoktur (67). Dermal yapıları önemli ölçüde düzenleyen IL-1A yakın zamanlarda dermatolojik ve kozmetik formülasyonlarda da kullanılmaya başlanmıştır (68, 69).

4. GEREÇ VE YÖNTEM

4.1. Materyal

Çalışmamız, Fırat Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu Başkanlığı'nın onayı ve Fırat Üniversitesi Araştırma Projeleri Birimi (FUBAP) desteği alındıktan sonra başlatıldı. Bu çalışmada materyal olarak kullanılan Wistar-Albino cinsi sıçanlar Fırat Üniversitesi Deney Hayvanları Merkezi (FÜDAM) 'den temin edildi. Araştırma FÜDAM'da gerçekleştirildi. Deney için 230-250 gr ağırlığında 8 haftalık 36 adet Wistar-Albino cinsi erkek sıçanlar kullanıldı. 21°C oda ısısında, 12 saat aydınlık (07:00-19:00) ve 12 saat karanlık (19:00-07:00) ortamda tutulan sıçanlar, özel olarak yaptırılan kafeslerde beslendi. Yemler; çelik kaplarda, su; cam biberonlarda (normal çeşme suyu) verildi. Hayvan yemleri Yem Sanayi T.A.Ş. Elazığ Yem Fabrikasında hazırlandı (Tablo 6).

Tablo 6. Deney hayvanlarına verilen sıçan yeminin terkihi.

Buğday (%)	15
Mısır (%)	10
Arpa (%)	27
Kepek (%)	8
Soya (%)	29,4
Balık unu (%)	8
Tuz (%)	0,6
Kavimix VM 23-Z(%)*	0,2
Methionin (%)	0,2
DCP (%)**	1,6
* 1 gramında : 4800 IU A, 960 IU D3, 12 mg E, 0,8 mg K3, 0,8 mg B1, 2,4 mg B2, 1,2 mg B6, 0,006 mg B12 vitaminleri, 16 mg Nikotin amid, 3,2 mg Cal. D. Panth., 0,32 mg Mn, 16 mg Fe, 24 mg Zn, 2 mg Cu, 0,8 mg I, 0,2 mg Co, 0,06 mg Se, 4 mg Antioksidan ve 200 mg Ca bulunur. ** % 18 fosfor, % 25 kalsiyum, % 0,2 flor'dan oluşur.	

Grup VIII: Enjeksiyon uygulaması yapıldıktan sonra 30. gündeki sıçanlar (n=4) belirlenen bu günlerde dekapite edildi. Hızlıca testisleri çıkarılıp Boin Solüsyonunda 6-7 saat süreyle tespit edildi. Tespit aşamasından sonra dokular % 50'lik, %60'lık ve % 70'lik alkollerde 12'şer saat yıkandı. Yıkanan dokular dereceli alkol serilerinden (%80, %90, % 96, % 100) geçirildi. Ksilolde parlatılıp 56°C ısıli etüvde parafin infiltrasyonu yapıldı. Ardından parafin bloklar (Sigma-paraplast embedding media, Stenheim, Germany) hazırlandı. Bu parafin bloklardan 5 µm kalınlığında kesitler alındı. Kesitlerin bir kısmı ile Hematoksilen & Eosin (H&E), Periodic Acid Schiff (PAS) ve Masson Tricrom (Masson) teknikleri kullanılarak histokimyasal boyama yapıldı. Diğer kısım kesitler imminohistokimya için hazırlandı.

4.3. Histolojik Çalışmalar

Her gruptan alınan testis dokuları boin solüsyonunda tespit edildikten sonra sırasıyla % 50, %60 ve %70'lik alkol serilerinde yıkandı. Bu dokular daha sonra rutin histolojik takip serilerden (Tablo 7) geçirilerek dehidrate edildi. Ksilolde bekletilip parlatıldı. Sonra dokular parafin bloklara (Sigma paraplast embedding media, Stenheim, Germany) gömüldü. Parafin bloklardan 5-6 µm kalınlığında kesitler alındı. Kesitler Hematoksilen & Eozin (H&E) boyası, Masson Trikrom (MASSON) ve Periyodik Asit Schiff (PAS) metodları ile boyandı. Hazırlanan preparatlar araştırma mikroskopunda (Olympus BH-2) incelenip fotoğraflandı.

Tablo 7. Histolojik takip serileri

İşlem	Süre
1	%70 Alkol
2	%80 Alkol
3	%96 Alkol I
4	%96 Alkol II
5	%100 Alkol I
6	%100 Alkol II
7	Alkol+Ksilol
8	Ksilol I
9	Ksilol II
10	Yumuşak parafin+ Ksilol
11	Yumuşak parafin
12	Yumuşak parafin+Sert parafin
13	Sert parafin
14	Gömme

4.4. TUNEL Metodu

Parafin bloklardan 5 µm kalınlığında alınan kesitler polilizinli lamlara alındı. Üretici firmanın talimatları doğrultusunda ApopTag Plus Peroxidase In Situ Apoptosis Detection Kit (Chemicon, cat no: S7101, USA) kullanılarak apoptoza giden hücreler belirlendi. Boyama metodu aşağıdaki tabloda ayrıntılı olarak verilmiştir (Tablo 8).

Hazırlanan preparatlar Novel N-800M mikroskopunda incelenerek değerlendirildi ve fotoğraflandı. TUNEL boyamanın değerlendirilmesinde Harris hematoxilen ile maviye boyanmış çekirdekler normal, kahverengi nükleer boyanma gösteren hücreler apoptotik olarak değerlendirildi.

TUNEL boyamanın değerlendirilmesinde boyanmanın yaygınlığı esas alındı. TUNEL boyamanın yaygınlığı 0'dan +4'e kadar sayı ile semi-kantitatif olarak skorlandı (Tablo 9).

Tablo 8. TUNEL boyama prosedürü

	İşlem	Süre
1	60°C etüv	Bir gece
2	Xylol	3x15 dakika
3	%100, %96, %80, %70 etil alkol	3'er dakika
4	PBS	5 dakika
5	Kesitlerin çevreleri sınırlayıcı kalem ile çizilir.	
6	1:500 dilüsyondaki Protinaz K solüsyonu	20 dakika
7	PBS	3x5 dakika
8	Endojen peroksit blokajı (% 3 H ₂ O ₂)	3 dakika
9	PBS	3x5 dakika
10	Equilibration tampon solüsyonu	10 dakika
11	Çalışma solüsyonu (%70 µl Reaction Buffer+%30 TdT Enzyme) 37°C'de	60 dakika
12	Stop/Wash Buffer (2ml) +Distile su (68ml) Oda sıcaklığında	10 dakika
13	Anti-Digoxigenin-Peroxidase	30 dakika
14	PBS	3x5 dakika
15	DAB Dilution Buffer + DAB Substrate	5-10 dakika
16	PBS	3x5 dakika
17	Distile su	5 dakika
18	Harris hematoksilen	1 dakika
19	Distile su	5 dakika
20	%80, %96 ve %100 etil alkol	1'er dakika
21	Xylol	2x5 dakika
22	Kapatma medyumu kullanılarak lamel ile kapatma.	

Tablo 9. TUNEL boyama yaygınlığının derecesi

Derece	Anlamı
0	Yok
+1	Çok az (0-3 gün)
+2	Az (30 gün)
+3	Orta (15 gün)
+4	Şiddetli (4-8 gün)

5. BULGULAR

5.1. Histolojik Bulgular

Kontrol grubuna ait testis dokusu kesitlerinde tunika albuginea, seminifer tübül, seminifer tübüllerin germinal epiteli (Şekil 8) ve interstisyel alanda bulunan Leydig hücreleri normal yapıda gözlemlendi. Seminifer tübül bazal membran kontürlerinin PAS boyamasıyla normal yapıda olduğu izlendi (Şekil 9).

PBS uygulanmış sham kontrol grubunda da, kontrol grubuna benzer olarak seminifer tubuller, germinal epitelyum ve Leydig hücreleri, bazal membran, sertoli ve miyoid hücreler normal yapıda gözlemlendi (Resim 10).

IL-1A uygulanmış 0. gündeki testis dokusu kesitlerinde kontrole yakın görünümlü normal yapıda seminifer tübüller (Şekil 11) yanında düzensizlikler gösteren tübüller de ayırt edildi (Şekil 11). Bazı tübüllerde germinal epitelde kayıp, buna bağlı epitelde boşluklar, spermatosit sayısında azalma ve bazal laminada invaginasyonlar görüldü (Şekil 12-a,d). Tübüllerini saran interstisyel alanda plazma hücreleri belirgindi (Şekil 12-a,c). Bu grupta şekilleri farklılaşmış tübüller de gözlemlendi (Şekil 12-b). Seminifer tübül epitelinin bazal membranı üzerine oturmuş sertoli hücreleri ve uzantıları rahatlıkla seçiliyordu (Şekil 12-c).

Bazı seminifer tübül epitel hücrelerinde belirgin derecede azalmanın olduğu görüldü (Şekil 12a-d). Yine bu grupta lümene geçen olgunlaşmamış germ hücreleri gözlemlendi seminifer tübüller arasında ki interstisyel alanda genişlemeler mevcuttu (Şekil 13).

IL-1 A uygulanmış 1. gündeki testis dokusu kesitlerinde olgunlaşmadan lümene atılan spermatosit hücrelerinin yanı sıra (Şekil 14), kromozomları belirgin hale geçmiş mitozun profaz evresindeki spermatosit hücreleri (Şekil 15) görüldü.

Seminifer tübülün bazal membranında katlantılar mevcuttu. Bazı tübüllerde tübül lümeni hücreler tarafından işgal edilmiş olduğundan tübül lümeni g zlenemiyordu. Germ epitelyum hücreleri arasında özellikle de bazal membrana yakın kısımlarda epitelyum içinde hiyalinize boşluklar gözlendi (şekil 16). Kesitlerde birbirinden farklı çaplara sahip seminifer tübüller oluştuğu görüldü. Tübüller arası alanlarda hücre artışına bağlı olarak mononükleer hücre infiltrasyon alanları gözlendi. Buna bağlı olarak bazı tübüllerin dejenerasyona uğradığı gözlendi (şekil 17).

IL-1 A uygulanmış 3. gündeki testis dokusu kesitlerinde ise lümenlerinde hücreler bulunan atrofik tübüller mevcuttu. Lümen hücrelerle dolmuştu ve tübüller arası interstisyel alan genişlemişti. Tübül epitelyum hücreleri arasında ayrılmalar görüldü (şekil 18). Seminifer tübüller arasında interstisyel alanda mononükleer hücre infiltrasyonu gözlendi (şekil 19). Bazı kesitlerde ise, seminifer tübüllerde atrofi görüldü. Tübüllerin boyutlarının küçülmesine bağlı olarak interstisyel alanda genişlemeler mevcuttu. PAS boyamasıyla yer yer tübül çevresinde bazal membranın bozulduğu gözlendi. Ayrıca spermatogonyumların bazal membrandan ayrıldıkları izlendi. İnterstisyel dokuda, seminifer tübülün bazal membranından ayrılan kollogen iplikler gözlendi (şekil 20).

IL-1 A uygulanmış 4. gündeki testis dokusu kesitlerinde bazı tübül yapılarında, spermatogenez evresindeki hücresel dizilim normal değildi. Tübül epiteli içerisinde gruplaşmış hücreler mevcuttu (şekil 22). Bazı kesitlerde tübüller arası interstisyel alanda genişlemeler ve plazma hücrelerinde artış mevcuttu. Seminifer tübüller küçülmüş ve atrofiye uğramıştı (şekil 21). Başka bir kesitte interstisyel alanda bağ doku hücrelerinde ve damarlarda artış gözlendi. Bazal membranda kalınlaşma ve dejenerasyon mevcuttu (şekil 22). Tübül

lümenine dökülmüş, olgunla mam   spermatozitler ayırt edildi. Seminifer tübül içerisinde germ hücreleri arasında ayrılmalar izlendi. Germ hücrelerinin spermatogenik gelişim sırasının bozulduğu ve hücrelerin seminifer epitelde gelişigüzel da ıldıkları gözlendi. Kesitlerde yer yer dejenere olmuş seminifer tübül yapıları izlendi ( ekil 23). Seminifer tübül içerisine ba  dokusu hücreleri ve kan damarlarının infiltre oldukları, bazı seminifer tübüllerin infiltratif tutulum gösterdikleri tespit edildi ( ekil 23, 24). Seminifer tübül lümeninde, farklı evrelerde olan ve olgunla mam   tübül hücreleri izlendi. ( ekil 24). İnterstisyel alanlarda genişlemeler mevcuttu ( ekil 25).

Bazı tübüllerde seminifer tübül yapısının tamamen normalden farklı görünümde olduğu izlendi. Bazal membranda katlantılar, seminifer tübül epitelinde grupla m   dejenere hücre toplulukları ve neredeyse bazı tübüllerde hemen hemen hiç normal germ hücresinin olmadığı saptandı ( ekil 22, 26).

IL-1 A uygulanmış 6. gündeki testis dokusu kesitlerinde seminifer tübüllerin bazılarının küçüldükleri ve dejenere oldukları izlendi. İnterstisyel alanların geni ledi i gözlendi ( ekil 27). Normale yakın seminifer tübül yapılarının yanında atrofik ve dejenaratif seminifer tübüller izlendi. Dejenartif seminifer tübül epitelinde vakuoller gözlendi ( ekil 28). Bazı kesitlerde spermatogenik serideki hücrelerin yok denilecek kadar az olduğu izlendi. Seminifer tübül epiteli kaybına bağlı olarak tübül lümen çapında artma gözlendi ( ekil 29-a). Dejenaratif seminifer tübül epitelinde germ hücrelerinin gruplar halinde yerleştikleri, normal seminifer tübül yapısından tamamen uzakla tikları gözlendi ( ekil 29-b). Seminifer tübül epiteli bütünlüğünü kaybetmişti. Bu tübüldeki mevcut spermatozitlerde metafaz arresti de izlendi. Bazal membran

oldukça kalınlaşmıştı. (Şekil 30). Germ hücre kaybına bağlı olarak az sayıdaki hücrelerin arasında sertoli hücreleri belirgin olarak seçildi (Şekil 31).

IL-1 A uygulanmış 8. gündeki testis dokusunda tübül şekli ve hücreler dizilimde bozukluklar mevcuttu. 8. günde de dejeneratif tübül yapıları ve lümenlerinde dejenere germ hücreleri görüldü (Şekil 32, 33). İnterstisyel alanda kan damarı artışı tespit edildi (Şekil 38). Dejenaratif seminifer tübül hücrelerinde normalde çok fazla göremediğimiz sertoli hücreleri bariz gözlemlendi. Germ hücrelerinin oldukça azaldığı ve bir kısmının dejeneratif olduğu saptandı. Tübül normal şeklini kaybetmiş ve bazal membranı düzensiz olarak gözlemlendi (Şekil 33). Normale yakın görünümdeki seminifer tübüllerin bazal membranında da ayrılmalar dikkati çekiyordu (Şekil 34). Seminifer tübüller arası alanda ödem saptandı (Şekil 35). Seminifer tübüllerin bazılarında metafaz arresti gösteren hücrelerin yanı sıra çok sayıda, kromozomları kutuplaşmış hücreler de saptandı (Şekil 36). Seminifer epitelde dejenere olmuş, gruplaşmış hücrelerde köpüksü görünüm seçildi. Normal germinal epitel hücreleri gözlenmedi (Şekil 37). Bu günde de interstisyel alanda kısmen bağ doku artımı mevcuttu (Şekil 38).

IL-1 A uygulanmış 15. gündeki testis dokusunda germinal epitelde organizasyon bozukluğunun devam ettiği dikkati çekti. Spermatogenetik evre hücreleri içermeyen, dizilimi bozulmuş tübül yapıları gözlemlendi (Şekil 39). Lümene farklı evrelerdeki germ hücrelerinin olgunlaşmadan döküldükleri saptandı (Şekil 40). Bazı tübüllerin tamamen dejenerasyona gittiği bazılarının ise bölünmelerini devam ettirdiği gözlemlendi (Şekil 41). Dejenaratif tübüllerde normal yapıdaki germ hücrelerine rastlanmadı (Şekil 42).

IL-1 A uygulanmış 30. gündeki testis farklı çaplarda seminifer tübüller mevcuttu (Şekil 44). Normale yakın görünümlü olmalarına rağmen germ hücreleri arasında ayrılmalar ve vakuoller mevcuttu (Resim Şekil 44, 45). Dejenaratif tübüllerin çapı oldukça küçüktü ve interstisyel alandaki kan damarlarında bariz olarak artış bariz gözlendi. İnterstisyel alandaki kan damarlarında konjesyon ve yer yer hiperemi gözlendi (Şekil 43). Seminifer tübül epitelinde vakuolizasyon ve hücre azalmasına bağlı tübül lümeninin genişlediği saptandı (Şekil 44). Bazı alanlarda bulunan seminifer tübül bazal laminasının oldukça kalınlaştığı ve bu tübüllerin dejenaratif görünümlü oldukları saptandı (Şekil 45).

5.2. TUNEL Bulgular

Kontrol grubuna ait testis dokusundan alınan kesitlere uygulanan TUNEL immun boyamasında TUNEL pozitiflik gözlenmedi (Şekil 46).

0, 1. ve 3. günde seminifer tübül epitelinin büyük bir kısmı TUNEL negatifken, nadir sayıda TUNEL pozitiflik gösteren spermatogonyum hücreleri mevcuttu ve boyanmanın şiddeti +1 olarak değerlendirildi (Şekil 47, 48, 49, 50).

4. 6. ve 8. günlerde spermatogenik seri hücrelerinin dejenaratif olanları da dahil büyük bir kısmı kahverengi renkte pozitif boyanma gösterdi ve boyanma şiddeti +4 olarak değerlendirildi (Şekil 51, 52, 53).

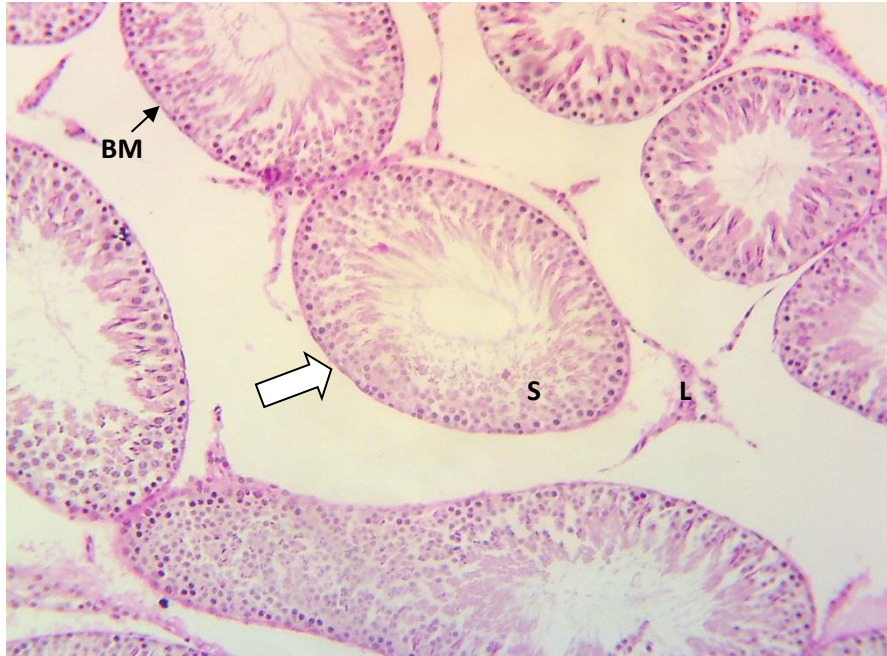
15. gündeki pozitif boyanma 4. ve 6. günlerle kıyaslandığında, bu günlerde seminifer tübül epitelinde TUNEL pozitifliğin azaldığı gözlendi ve +3 yoğunluğunda değerlendirildi (Şekil 54).

30. günde seminifer tübül epitelinde TUNEL pozitif hücreler nadir gözlendi ve boyanma şiddeti +2 olarak değerlendirildi (Şekil 55).

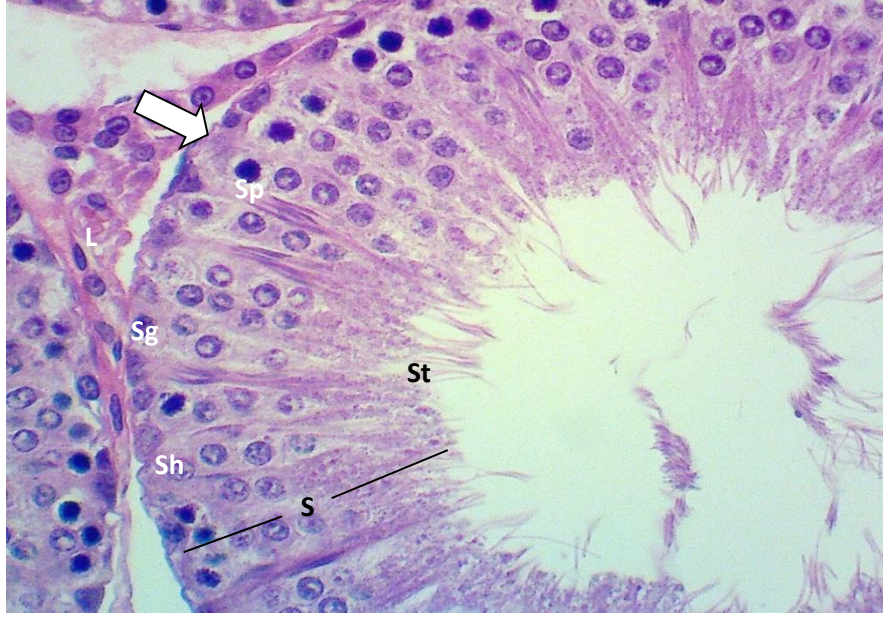
En fazla boyanmanın 4., 6. ve 8. günlerde olduğu belirlendi.



Şekil 8. Kontrol grubuna ait normal yapıdaki sıçan testis dokusu. Seminifer tübül (ok), S: Seminifer epitelyum, T: Tunika Albugenia, B: Bağ doku K: Kan damarı. Masson'un üçlü boyası x 40



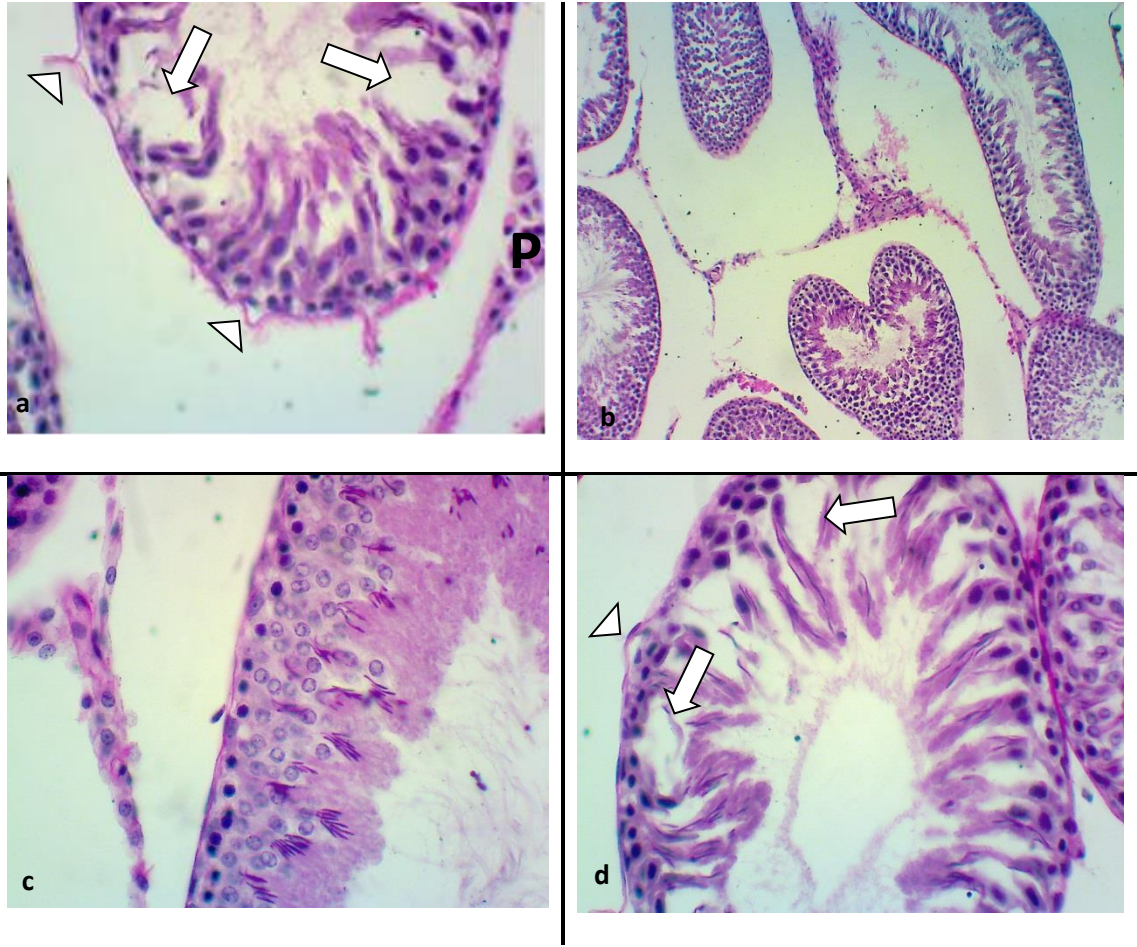
Şekil 9. Kontrol grubuna ait normal yapıdaki sıçan testis dokusu. L: Leydig hücreleri, Ok: Seminifer tübül, S: Seminifer epitelyum. BM: Bazal membran. PAS x 10



Şekil 10. Kontrol PBS uygulanmış grubuna ait normal yapıdaki sıçan testis dokusu. Ok: Seminifer tübül, S: Seminifer epitelyum, Sg: Spermatogonia, Sp: Spermatozit, St: Spermatid, L: Leydig hücreleri, Sh: Sertoli hücreleri, B: Bazal membran. H&E x40



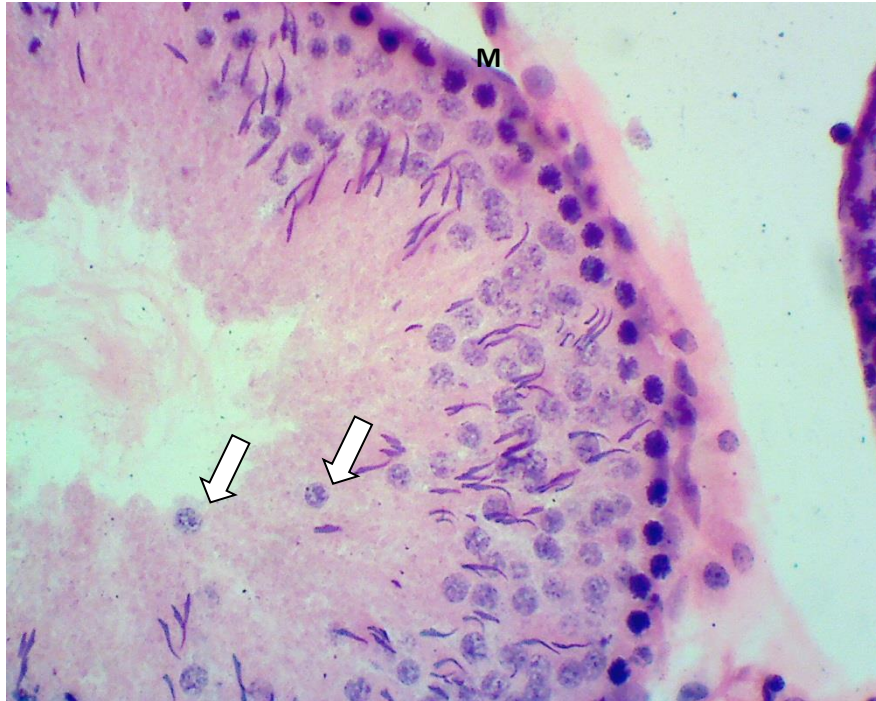
Şekil 11. IL-1A uygulanmış 0. gündeki testis dokusu. Normale yakın görünümdeki seminifer tübüller (oklar). Lümen içerisinde görülen olgunlaşmamış hücreler (ok başı). K: Kan damarı. PAS x10



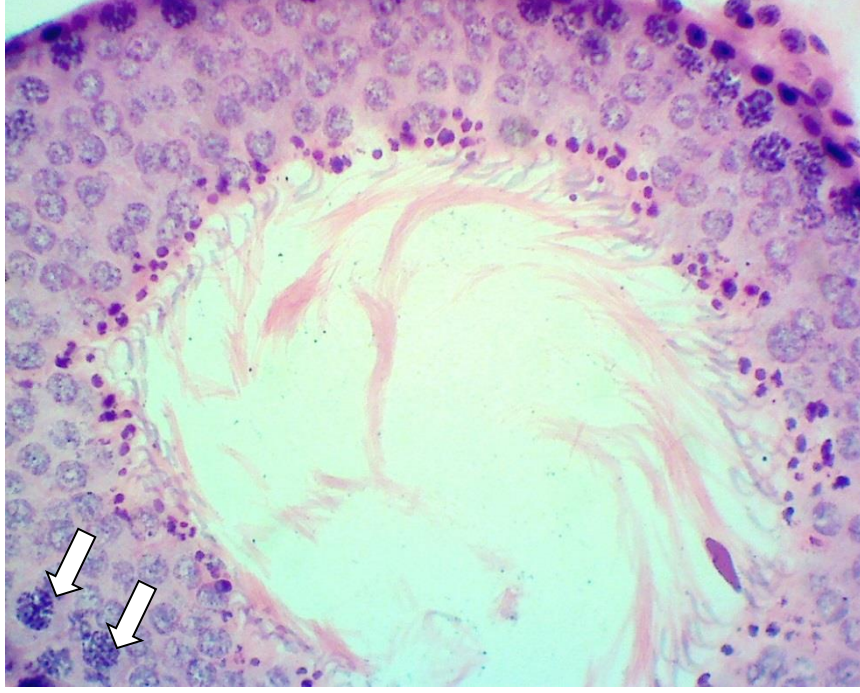
Şekil 12. IL-1A uygulanmış 0. gün testis dokusu. a, d : Seminifer tübül epitelinde kayıp (oklar) ve bazal laminada düzensizleşme (ok ucu) görülüyor, P: plazma hücrelerinde artış oluşmuş. PAS x40 b: Değişik şekilli tübüller, spermatosit sayısında azalma. c: Belirgin Sertoli hücre uzantıları. PAS x40



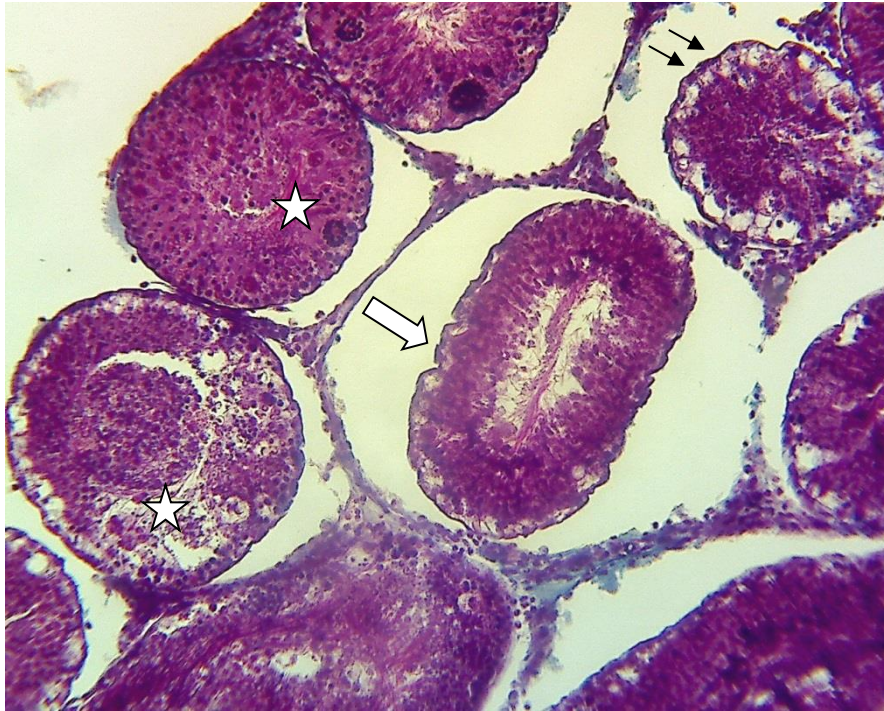
Şekil 13. IL-1A uygulanmış 0. gündeki testis dokusu. Tübül epitel hücreleri arasında ayrılmalar (ok uçları). Lümeninde olgunlaşmamış hücreler bulunan tübül yapısı (ok). Tübüller arasında genişlemiş interstisyel alan (yıldız). H&E x10



Şekil 14. IL-1A uygulanmış 1. gündeki testis dokusu. Olgunlaşmadan lümeneye atılan spermatosit hücreleri (oklar), M: Miyoid hücre. H&E x40



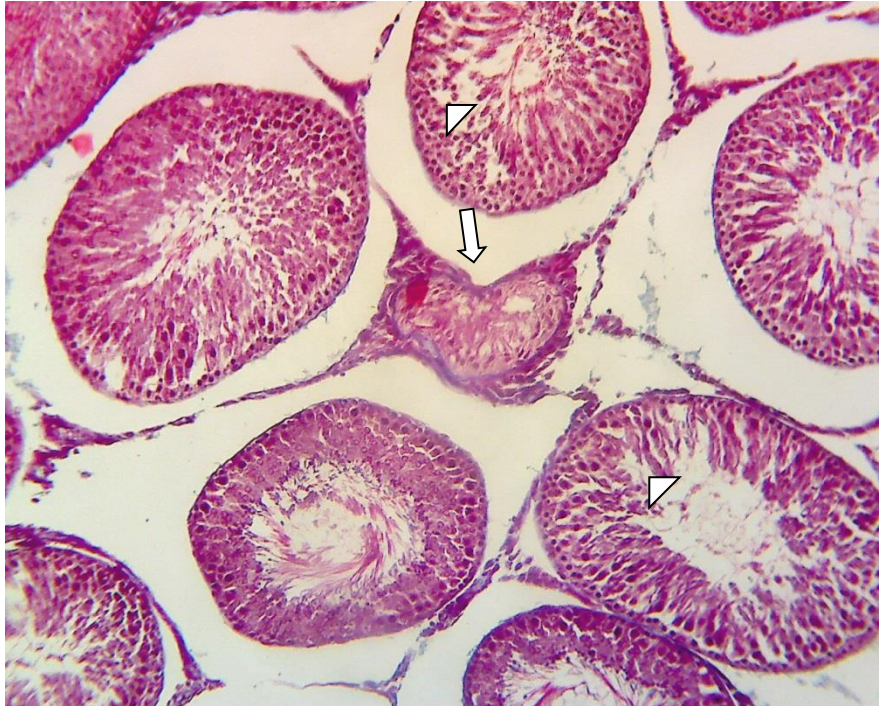
Şekil 15. IL-1A uygulanmış 1. gündeki testis dokusu. Kromozomları belirgin hale geçmiş metafaza geçiş dönemindeki spermatosit hücreleri (oklar). H&E x40.



Şekil 16. IL-1A uygulanmış 1. gündeki dejenere testis dokusu. seminifer tübülün bazal membranında katlantılar (ok). Tübül lümenini kapatmış seminifer tübül hücreleri (yıldız). Hiyalinizasyon gösteren tübüller (çift ok). Masson x10



Şekil 17. IL-1A uygulanmış 1. gündeki testis dokusu . Tübüller arası alanda mononükleer hücre infiltrasyonu (yıldız). Dejenerasyona giden seminifer tübüller (ok). PAS x 4



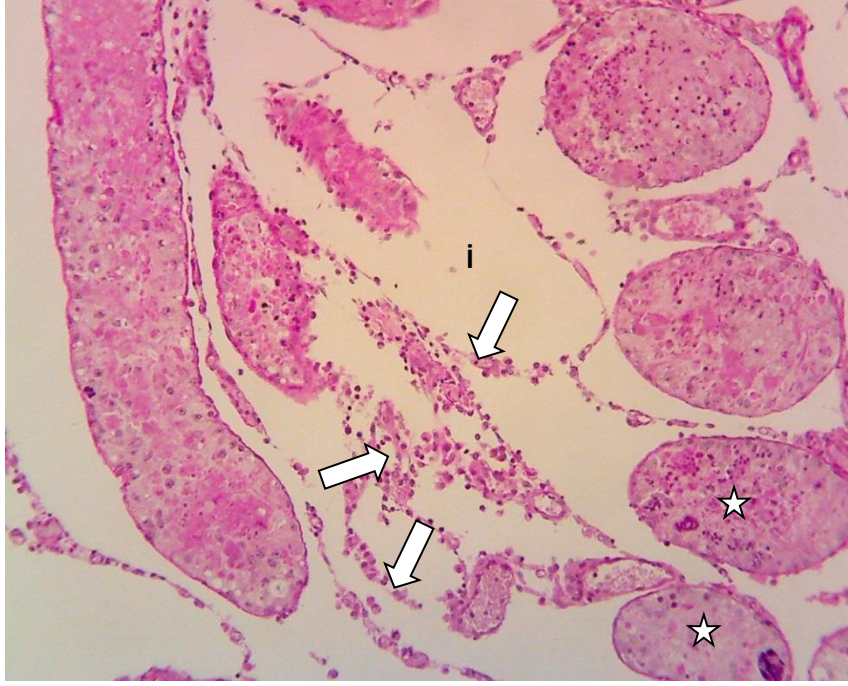
Şekil 18. IL-1A uygulanmış 3. gündeki testis dokusu. Tübül epitelyum hücreleri arasında ayrılmalar (ok uçları). Düzensizleşmiş atrofik tübül yapısı (ok). Masson x10



Şekil 19. IL-1A uygulanmış 3. gündeki testis dokusu. Genişlemiş interstisyel aralık (yıldız). Mononükleer hücre infiltrasyonu görülüyor (ok). PAS x4



Şekil 20. IL-1A uygulanmış 3. gündeki testis dokusu. Tübüler atrofi (ok ucu), bazal membranda düzensizlikler ve kalınlaşmaların görüldüğü (oklar) ve bazı spermatogoniumların bazal membrandan uzaklaştığı izlenmekte (yıldız). Bazal mambrandan ayrılan belirgin kollogen iplikler (k). PAS x10



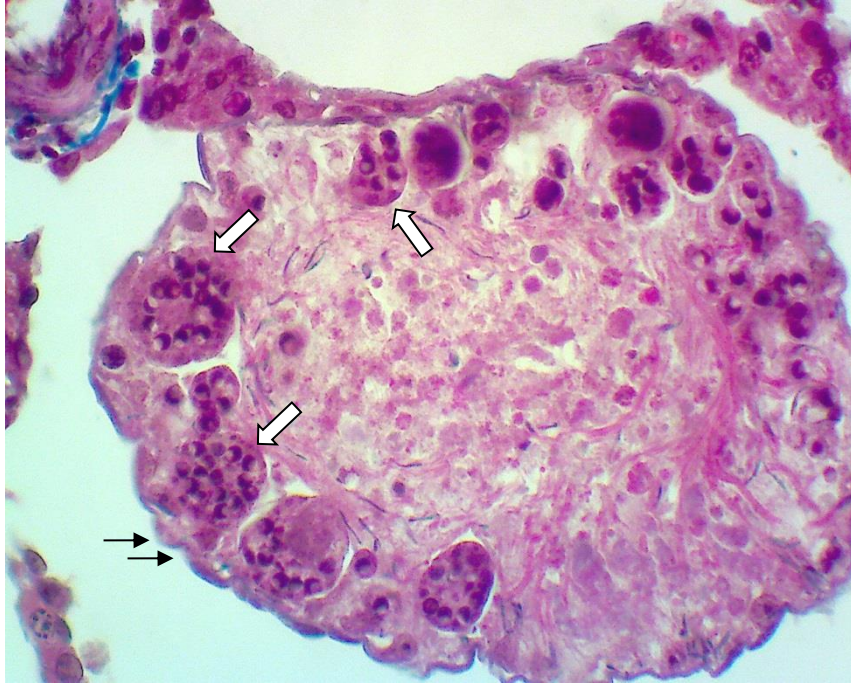
Şekil 21. IL-1A uygulanmış 4. gündeki testis dokusu: Tübüller arası interstisyel alanda genişlemeler (İ). Atrofik tübül yapıları (yıldız). Plazma hücrelerinde artış (oklar). PAS x10



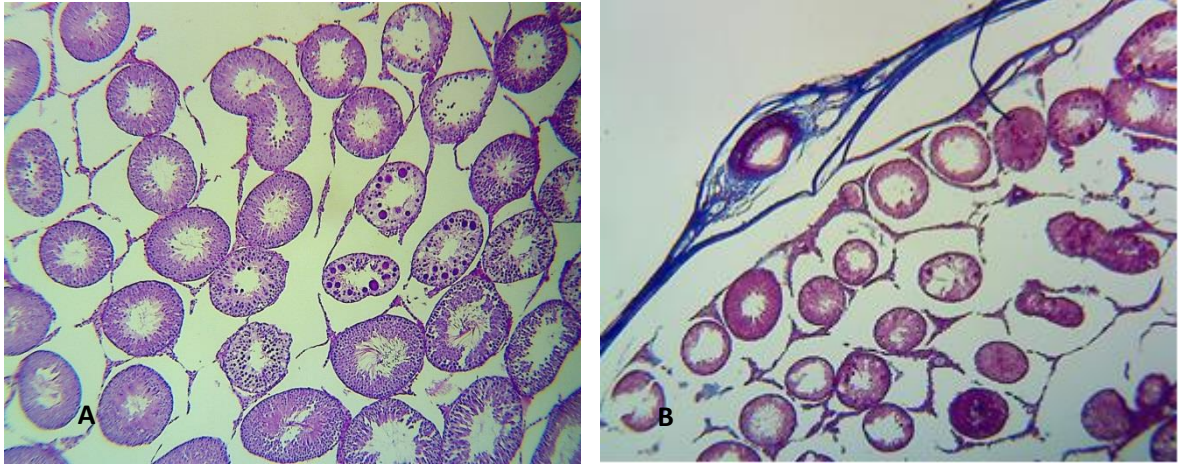
Şekil 22. IL-1A uygulanmış 4. gündeki testis dokusu. Seminifer tübül epitelinde atipik hücreler (ok). İnterstisyel alanda artmış bağ doku hücreleri (ok ucu) ve damarlar (yıldız). Bazal membranda kalınlaşma ve düzensizleşmeler (çift ok). PAS x40



Şekil 25. IL-1A uygulanmış 4. gündeki testis dokusu. Dejeneratif tübüller (oklar). Kan damarında (K) hiperemi. İÖ: İnterstisyel ödem. İnterstisyel alanda genişleme (yıldız). Masson x4



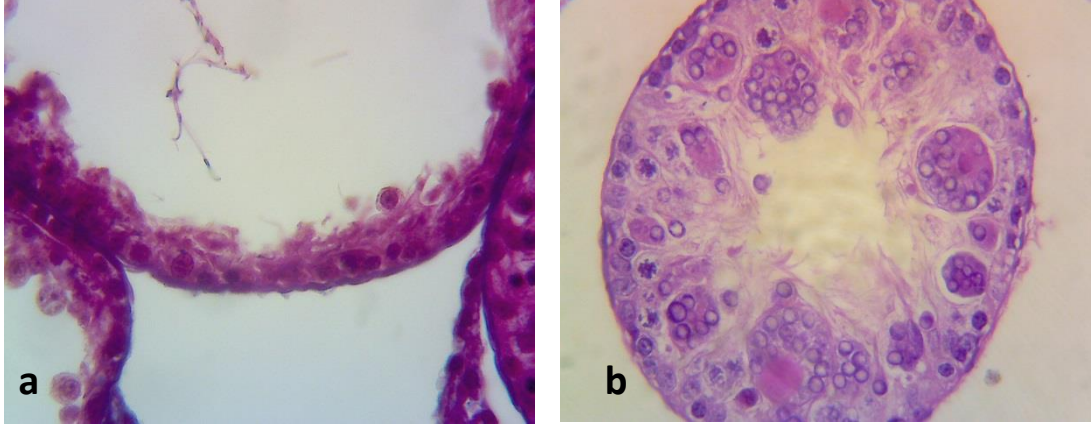
Şekil 26. IL-1A uygulanmış 4. gündeki testis dokusunda dejeneratif tübül yapısı. Bazal membranda katlanmalar (çift ok). Tübül içerisinde atipik hücreler (oklar). Masson x40



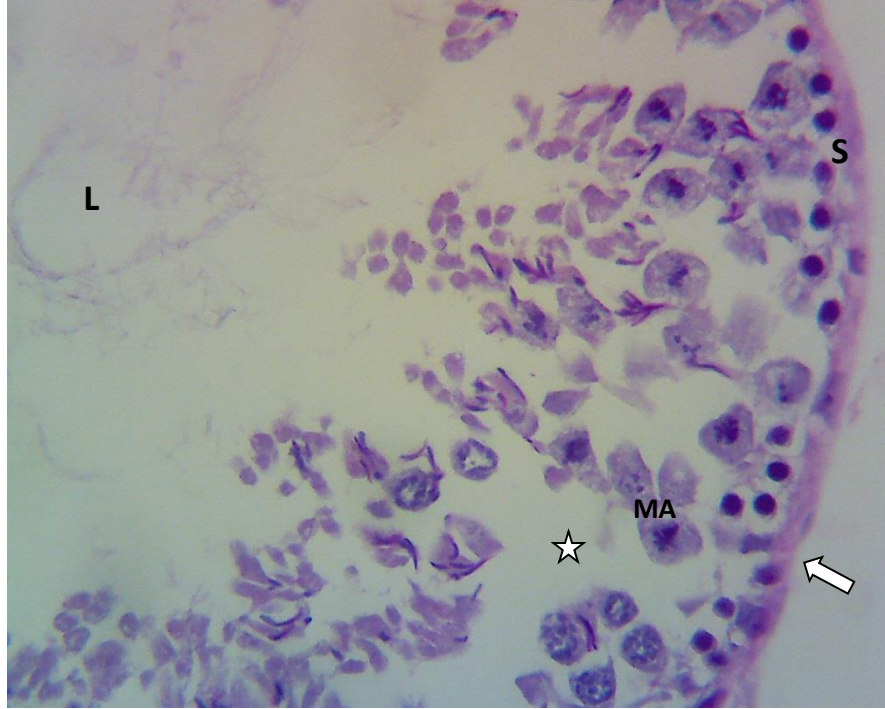
Şekil 27. IL-1A uygulanmış 6. gündeki testis dokusu. Küçülen, dejenere olan tübüller ve genişlemiş interstisyel alanlar. A) H&E x4, B) Masson x4



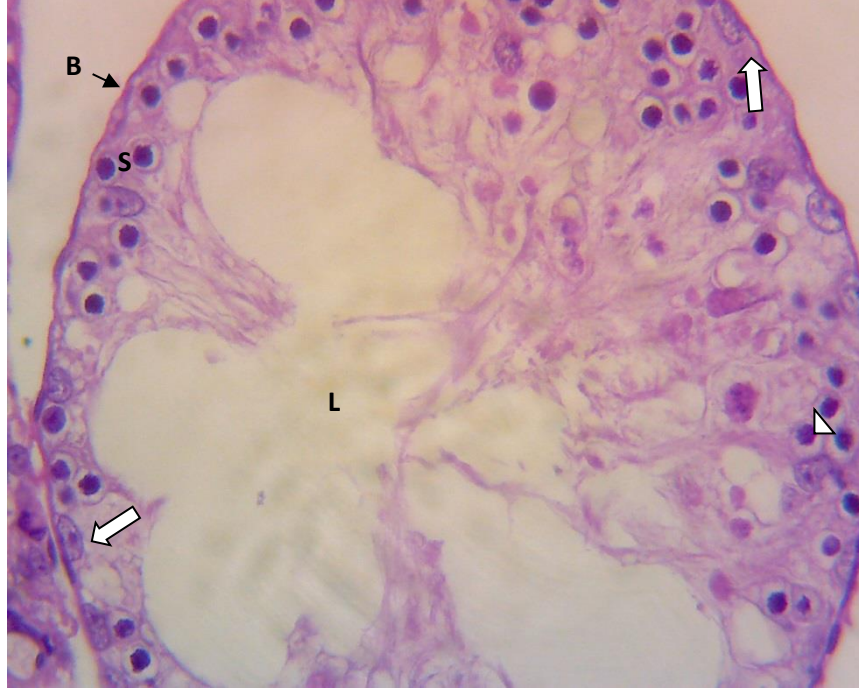
Şekil 28. IL-1A uygulanmış 6. gündeki testis dokusunda dejenaratif tübüller. Atrofik tübüller (oklar) ve genişlemiş interstisyel alanlar (İ). Seminifer tübül epitelinde vakuoller (yıldız). Masson x10



Şekil 29. IL-1A uygulanmış 6. gündeki testis dokusu **a)** Spermatogenik serideki hücrelerde azalma, seminifer tübül epiteli kaybına bağlı olarak tübül lümeninde genişleme. Masson x40 **b)** Dejenaratif görünümlü atipik hücreler içeren seminifer tübül. H&E x40



Şekil 30. IL-1A uygulanmış 6. gündeki testis dokusu. Seminifer tübül epitelindeki boşluklar (yıldız). Kalınlaşmış bazal membran (ok). S: spermatogonia. Metafaz arrestinde hücre (MA). L: Lümen. PAS x40



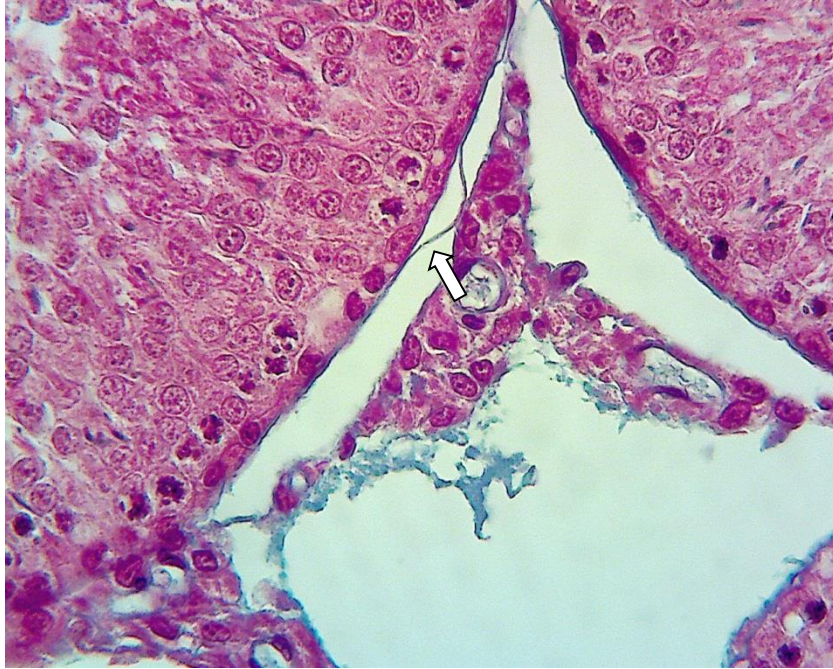
Şekil 31. IL-1A uygulanmış 6. gündeki testis dokusunda belirgin gözlenen Sertoli hücreleri (oklar). S: Spermatogonialar, L: lümen, B: Bazal membran. Sertoli hücre vakuolizasyonu (ok ucu). H E x40



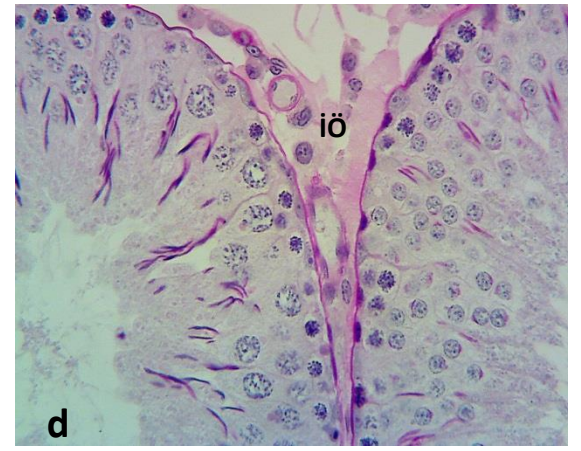
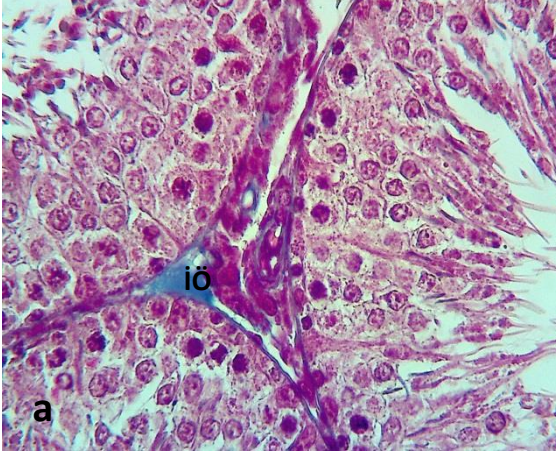
Şekil 32. IL-1A uygulanmış 8. gündeki testis dokusu. Atipik hücelere sahip tübüllerin (ok) yanı sıra daha iyi görünümlü hücelere sahip tübüller (ok ucu). K: kan damarı, T: tunika albuginea, Masson x10



Şekil 33. IL-1A uygulanmış 8. gündeki testis dokusu. Degeneratif bir tübülün epitelinde hücre sayısındaki azalma bariz gözleniyor. Dejenere hücreler (ok), ve vakuoller (yıldız). Açığa çıkmış çok sayıdaki Sertoli hücreleri (ok ucu). PAS x40



Şekil 34. IL-1A uygulanmış 8. gündeki testis dokusu tübül bazal membranında ayrılma (ok). Masson x40



Şekil 35. IL-1A uygulanmış 8. gündeki testis dokusu. İnterstisyel alanda ödem (İÖ). (a,c): Masson x40, (b,d): PAS x40



Şekil 36. IL-1A uygulanmış 8. gündeki testis dokusu. Tübül epitel hücrelerinde, metafaz arresti gösteren hücrelerin (ok) yanı sıra çok sayıda kromozomları kutuplaşmış hücreler görülüyor (ok ucu). Masson x20



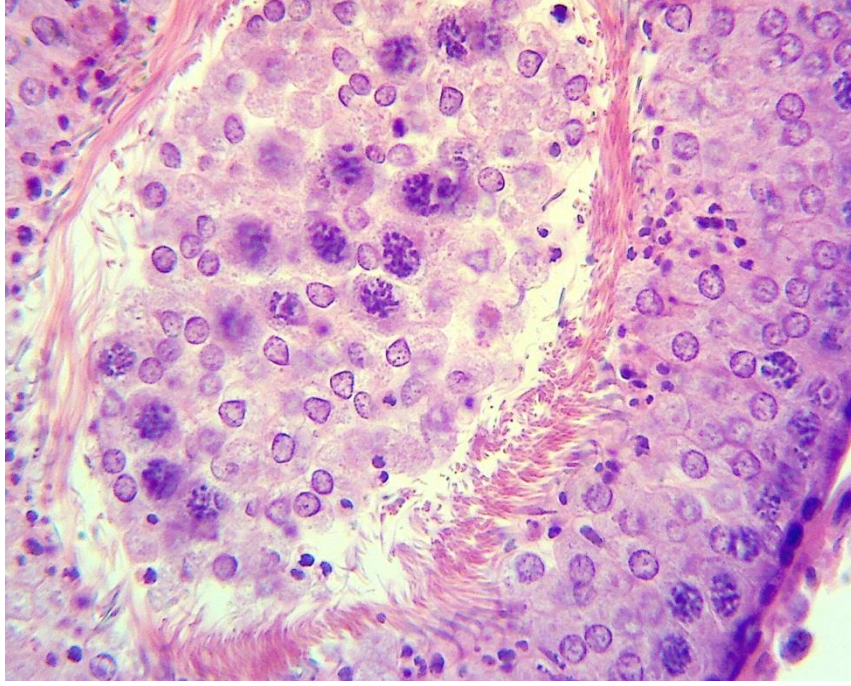
Şekil 37. IL-1A uygulanmış 8. gündeki dejeneratif testis dokusu. PAS x20



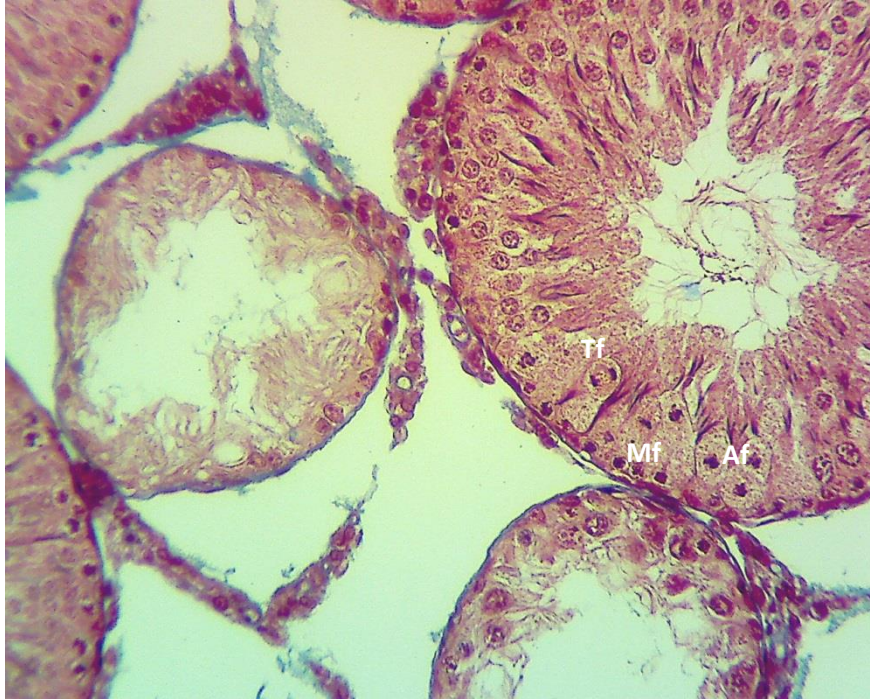
Şekil 38. IL-1A uygulanmış 8. günde testis dokusu. İnterstisyel alanda damar (K) ve bağ doku hücre (oklar) artışı. PAS x20



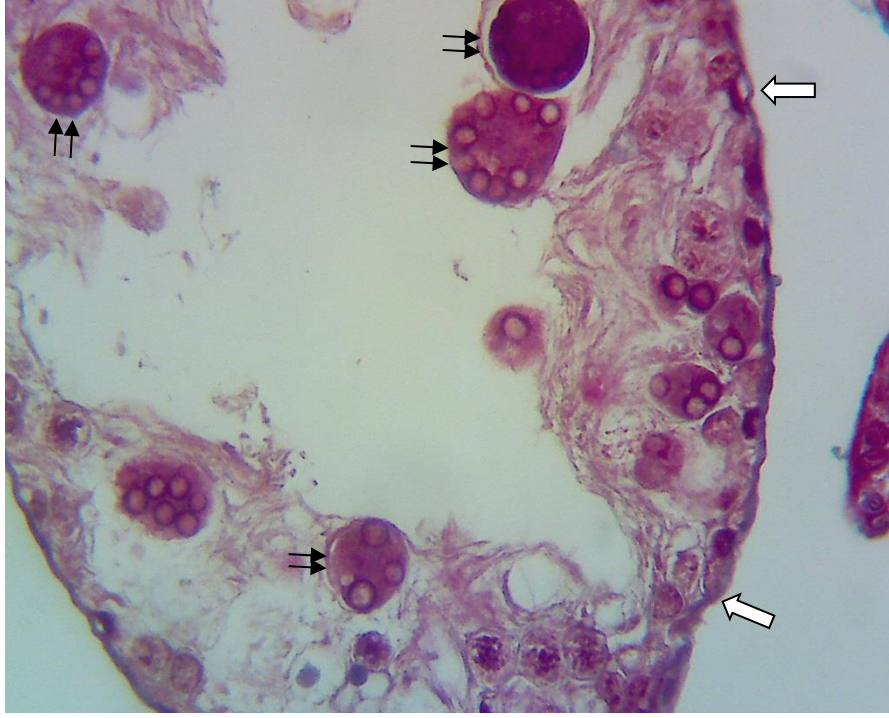
Şekil 39. IL-1A uygulanmış 15. günde testis dokusu. Spermatogenik evre hücrelerini içermeyen, dizilimi bozulmuş tübüller (oklar). Olgunlaşmamış hücre içeren tübül lümeni (ok ucu). Vakuol (yıldız). H&E x10



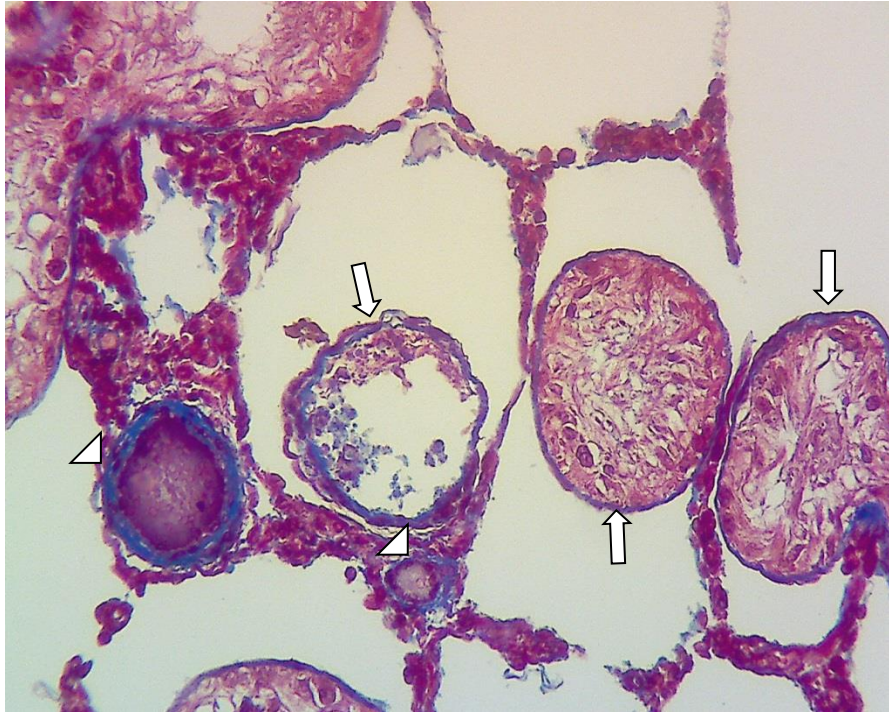
Şekil 40. IL-1A uygulanmış 15. gündeki testis dokusu. Lümeneye dökülmüş değişik evrelerdeki germ hücreleri. H&E x40



Şekil 41. IL-1A uygulanmış 15. gündeki testis dokusunda birbirinden farklı görünümlü seminifer tübüller. Değişik bölünme evresindeki spermatositler. Af: anafaz evresindeki spermatosit, Tf: Telofaz evresindeki spermatosit, Mf: Metafaz evresindeki spermatosit. Masson x20



Şekil 42. IL-1A uygulanmış 15. gündeki testis dokusunda dejeneratif hücreler (çift ok) içeren seminifer tübül epiteli. Bazal membrandaki bozulmalar (oklar). Masson x40



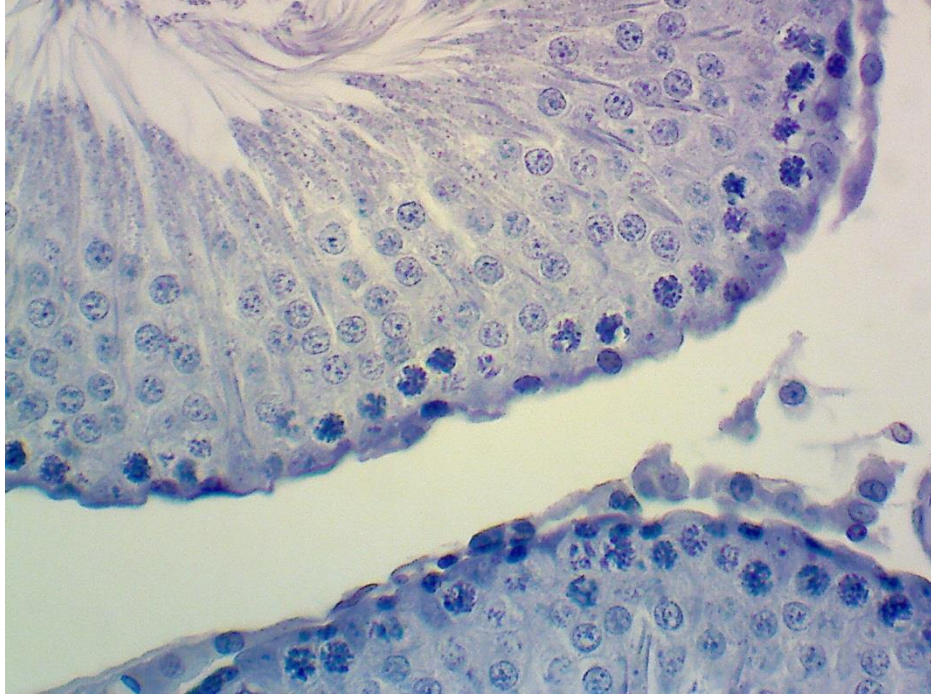
Şekil 43. IL-1A uygulanmış 30. gündeki testis dokusunda dejeneratif tübüller (oklar). İnterstisyel alanda kan damarlarında konjesyon ve hiperemi (ok ucu). Masson x20



Şekil 44. IL-1A uygulanmış 30. gündeki testis dokusu. Tübül epitelinde vakuolizasyon (yıldız). Hücre azalmasına bağlı genişlemiş lümen (L). Seminifer tübül epitelinde ayrılma (ok). H&E x10

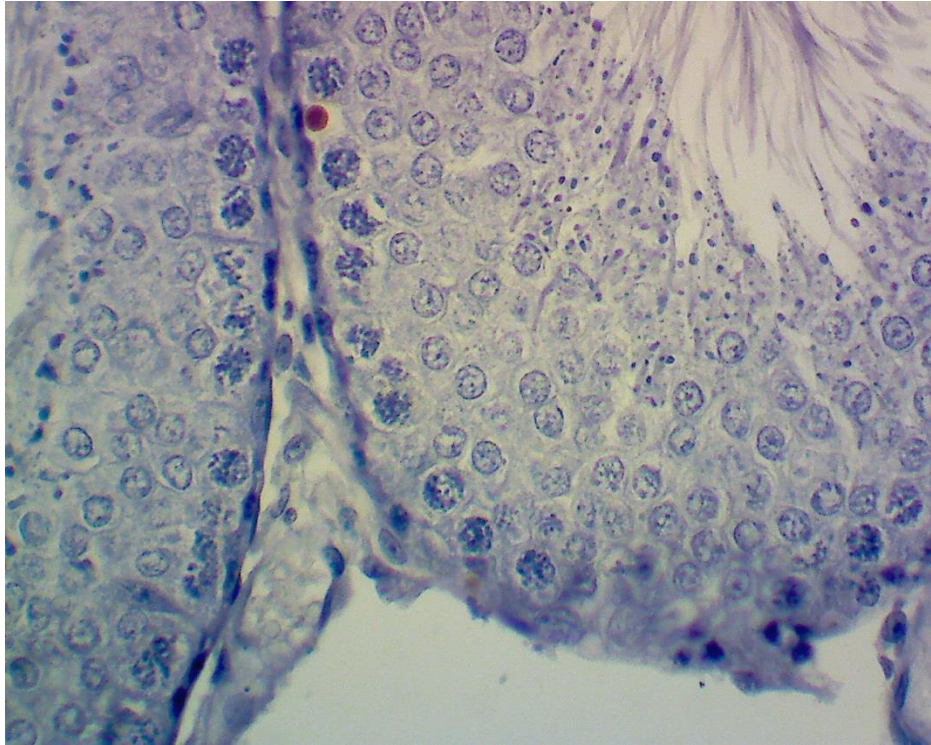


Şekil 45. IL-1A uygulanmış 30. gündeki testis dokusu. Vakuolizasyon gösteren dejeneratif tübüller (yıldız). Bazal membranda kalınlaşma (ok) PAS x40

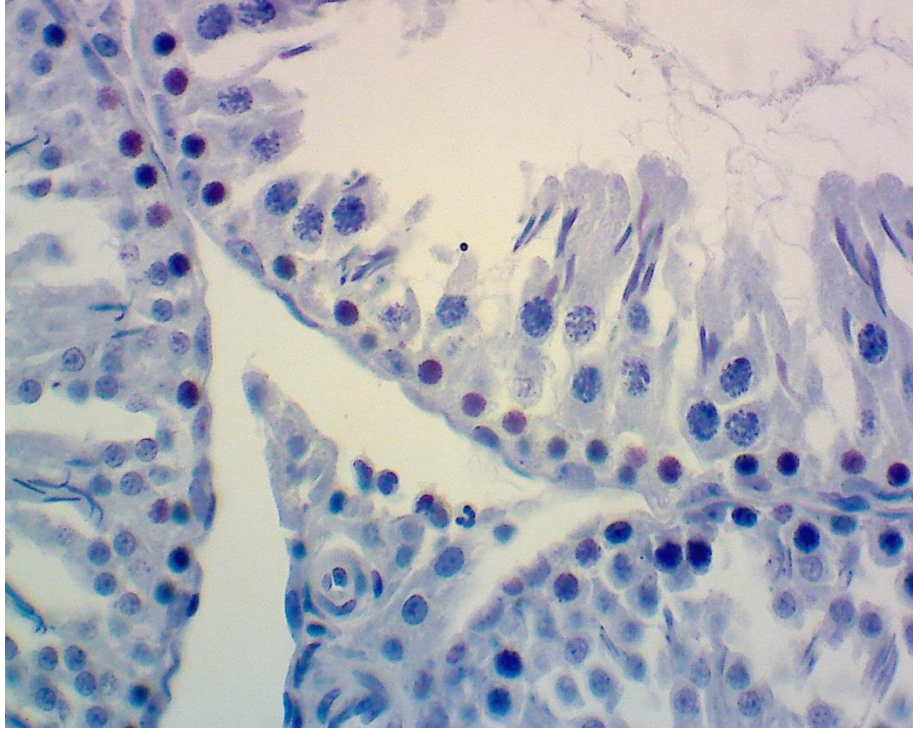


Şekil 46. Kontrol grubu testis dokusu TUNEL negatif seminifer tübüller.

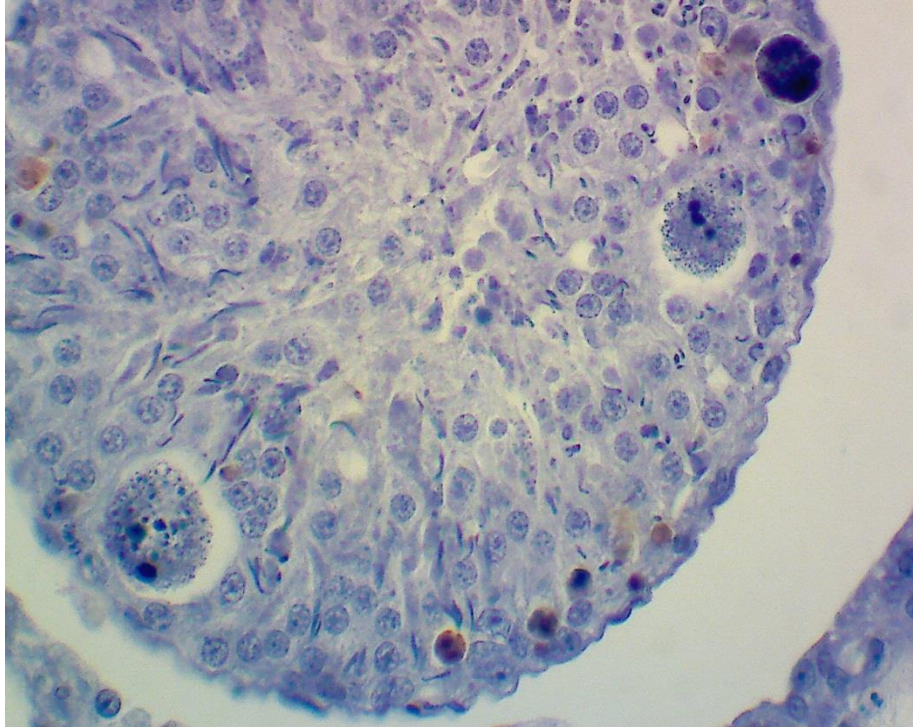
x40



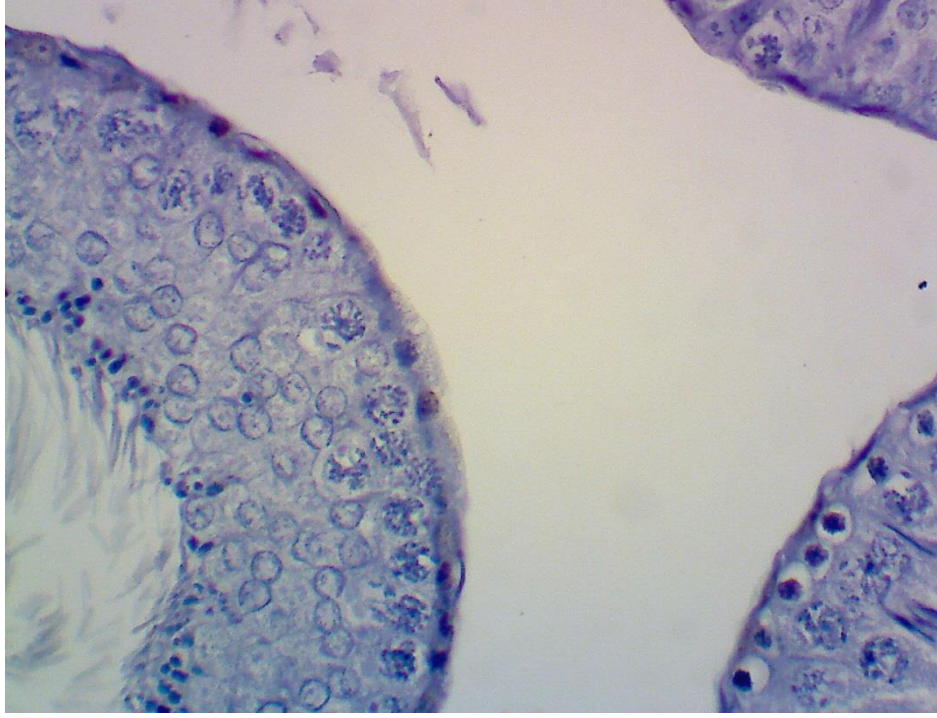
Şekil 47. IL-1A uygulanmış 0.gün testis dokusu TUNEL. Çok sayıdaki negatif hücrelerin yanı sıra nadir gözlenen TUNEL pozitif hücre (ok). x40



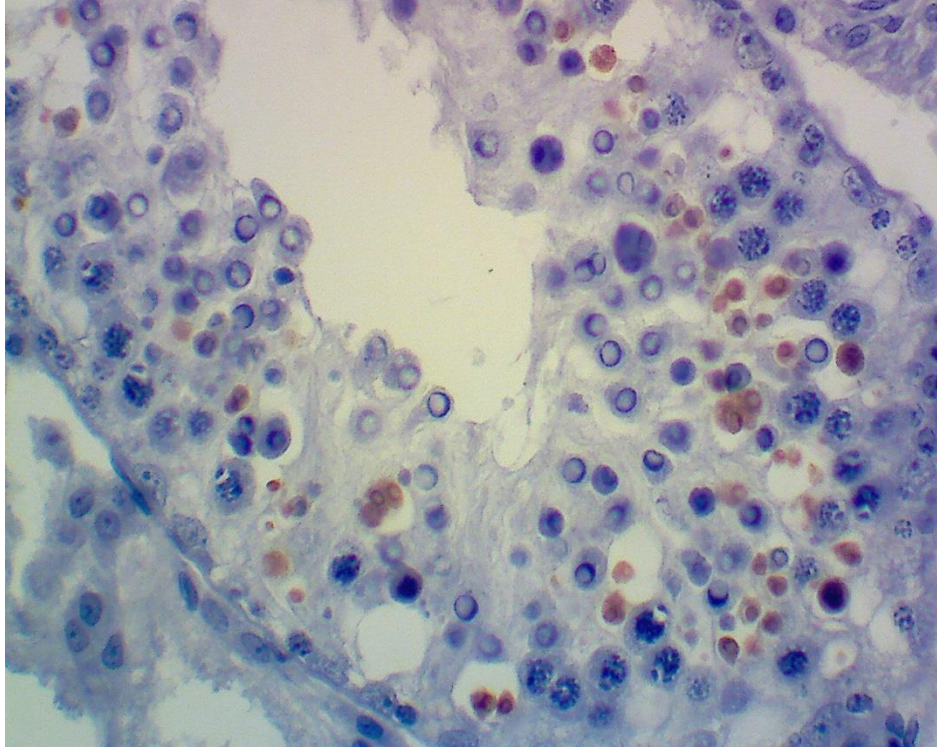
Şekil 48. IL-1A uygulanmış 1.gün TUNEL pozitif boyanmış spermatogonia hücreleri. x40



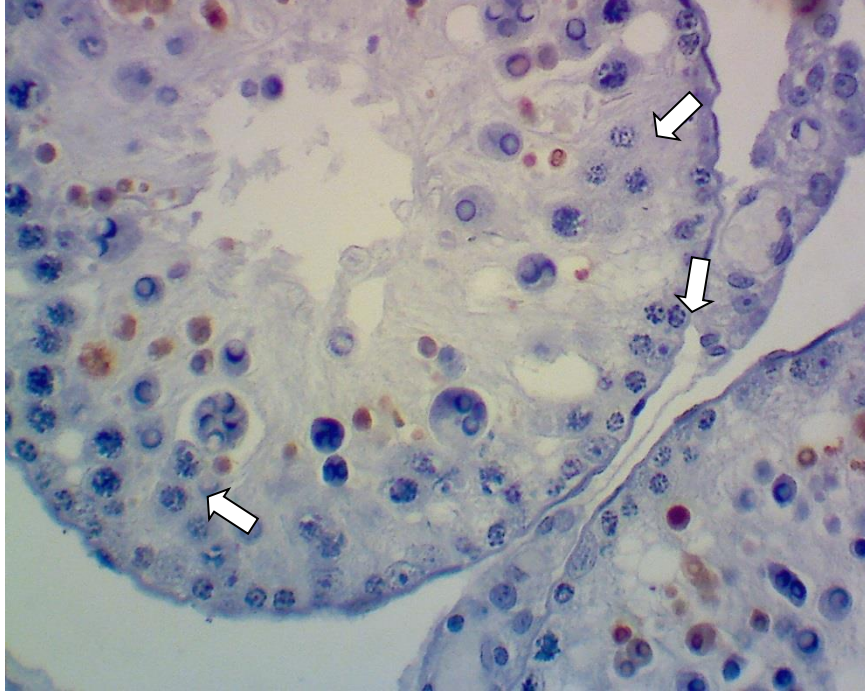
Şekil 49. IL-1A uygulanmış 1.gün TUNEL pozitif boyanmış dejeneratif hücreler içeren seminifer tübül epiteli. x40



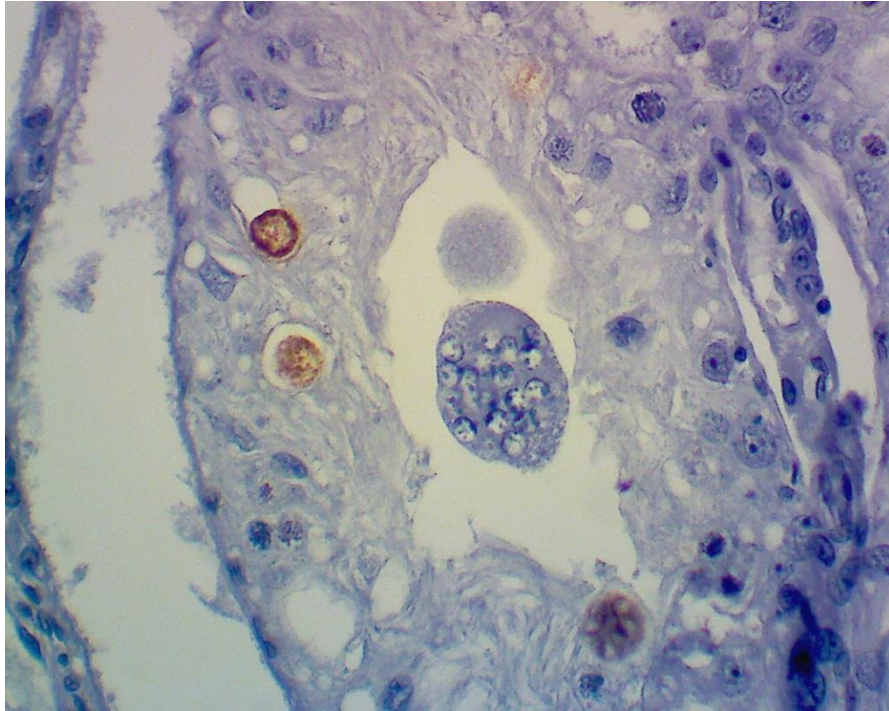
Şekil 50. IL-1A uygulanmış 3.gün TUNEL pozitif boyanmış seminifer tübül epiteli. x40



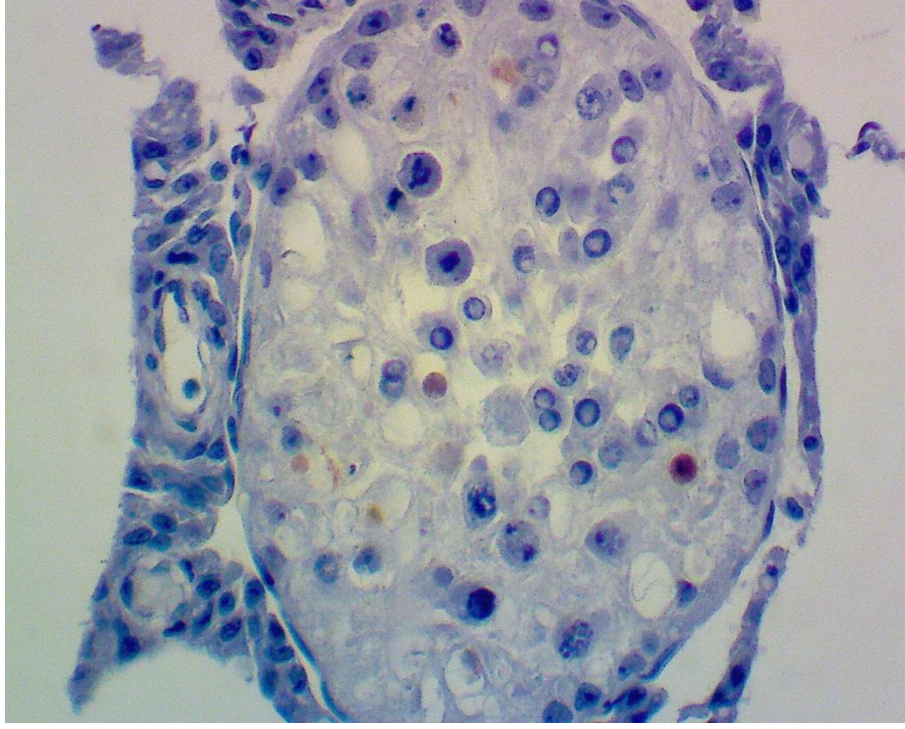
Şekil 51. IL-1A uygulanmış 4.gün değişik evrelerde TUNEL pozitif boyanmış tübül epitel hücreleri. x40



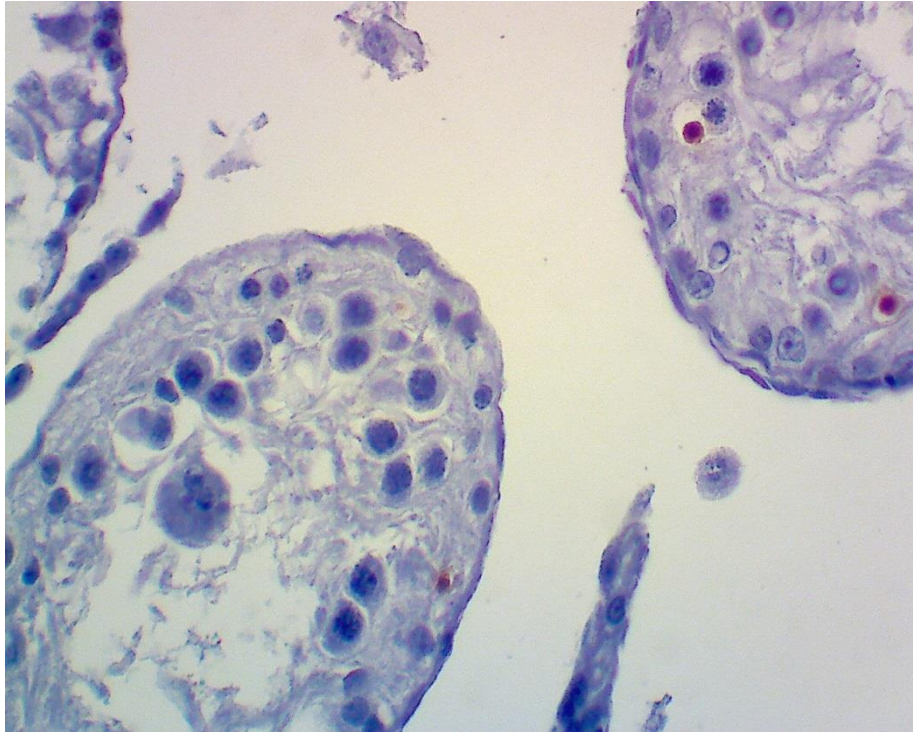
Şekil 52. IL-1A uygulanmış 6. gün TUNEL pozitif boyanmış dejeneratif hücreler içeren seminifer tübül epiteli. Değişik spermatogenik evredeki hücrelerde Mitotik figürler (oklar). x40



Şekil 53. IL-1A uygulanmış 8. gün TUNEL pozitif boyanmış dejeneratif hücreler içeren seminifer tübül epiteli. x40



Şekil 54. IL-1A uygulanmış 15. gün TUNEL pozitif boyanmış dejeneratif hücreler içeren seminifer tübül epiteli. x40



Şekil 55. IL-1A uygulanmış 30. gün nadir TUNEL pozitif boyanmış seminifer tübül epiteli. x40

6. TARTIŞMA

IL-1A'nın büyük kısmı epitelyal hücrelerde yapılır. Epidermiste önemli miktarda bulunur ve canlı epidermal hücrelerle stratum korneum'da eşit oranlarda dağılmıştır. IL-1A'nın sağlıklı epidermal keratinositlerde çok miktarda bulunması, derinin patojen mikroorganizmaların vücuda girmesine karşı bariyer oluşturmasını sağlayan bağışık yanıtta rol oynamaktadır (61). IL-1A'nın fizyolojik, metabolik, immünolojik, hematopoetik çok sayıda işlevine rağmen merkezi sinir sistemi, kan ve diğer bazı dokularda bulunan hücrelerde sentezi yapılmamaktadır. Diğer pek çok hücrede ise IL-1A geninin transkripsiyonu ve öncü formunun üretimi yalnızca uyarım sonucunda yapılabilmektedir. Bu grupta yer alan hücreler fibroblastlar, makrofajlar, granülositler, eozinofiller, Mast hücreleri, bazofiller, endotel hücreleri, plateletler, monositler, myeloid hücre serileri, kan T ve B lenfositleri, astrositler, böbrek mezengiyal hücreleri, Langerhans hücreleri, dermal dendritik hücreler, NK hücreleri, mikroglia hücreleri ve maternal plasental hücrelerdir (62).

IL-1A ratlarda, hem Sertoli hücrelerinde hem de immatür germ hücrelerinde üretilmektedir (45, 70). Ayrıca IL-1A'nın hem spermatogonial büyüme faktörü hem de Sertoli hücre fonksiyonlarının bir aktivatörü gibi fonksiyonu olduğu ileri sürülmüştür (71). Testiste IL-1A'nın regülasyonu ile ilgili bilgi azdır. Diğer hücre tiplerinde IL-1A bir erken yanıt geni gibi kopyalanmış (72, 73) ve diğer sitokinlerin aktivasyon kaskadını etkilemiştir (74). Sertoli hücreleri yalnızca IL-1A üretmeyebilir, aynı zamanda hücrel bir hedef olabilen seminifer tübüllerdeki IL-1 Reseptör Tip I'in ekspresyonunu da aktive eder. Ayrıca IL-1A'nın otositümülasyonunun diğer hücre tiplerinde bulunmasıyla, IL-

1A'nın kendi gen ekspresyonu üzerindeki etkileri, Sertoli hücre kültürlerinde çalışılmıştır (75).

Hücrel immünite son yıllarda üzerinde geniş araştırmaların yapıldığı önemli bir alan olmuştur. Bunun en güzel örneği homolog sperm ya da testis antijenlerinin enjeksiyonu ile oluşturulan deneysel allerjik orşit çalışmasında gösterilmiştir. Sonuçta testislerde hücre infiltrasyonu gelişerek germ hücreleri haraplanmakta ve aspermi ile neticelenmektedir. İşte bu hayvanlardan alınan testis antijenleri ile aktive olmuş T-lenfositleri başka hayvanlara enjekte edildiğinde, yine aynı orşit tablosu bunlarda da ortaya çıkmaktadır. T hücrelerinin bu hayvanlarda orşit yapabilmesi için daha önceden uyarılmış olmaları gerektiği düşünülürse, spermin hücrel bir immün mekanizmayı stimüle ettiği bunun da testisleri haraplayabileceği anlaşılmaktadır (76).

Benzer immün reaksiyonların insanda testislerde de geliştiğini gösteren kanıtlar vardır. Örneğin testis dokusu içinde makrofajlar, lenfositler ve granülositler bulunur. Semende de aynı hücreler görülmektedir. Ama bu hücrelerin sperm fonksiyonlarını ne şekilde etkiledikleri tam anlamıyla bilinmemektedir. Semende lökosit miktarının artması ile infertilite arasında bir ilişki bulunmaktadır. Lökosperminin hücrel immünitinin bir göstergesi olarak infertilitede ortaya çıkabileceği, üzerinde ilgiyle çalışılan bir konudur (77).

Bu çalışmayla uyumlu olarak bizim çalışmamızda da interstisyel alanda mononükleer hücre infiltrasyonu ve bazı alanlarda artmış plazma hücreleri gözlemlendi. Bunun sonucunda germ hücreleri haraplamakta, erken dönemde gelişmemiş germ hücreleri lümende gözlenmektedir. Bu da bize IL-1A'nın infertiliteyi doğurabileceği sonucunu düşündürmektedir.

Yapılan çalışmalarda, IL-1A'nın intratestiküler enjeksiyonunu takiben, Sertoli-germ hücre yapışması ve KTB fonksiyonunun hasar gördüğü rapor edilmiştir. İlginç bir şekilde, Sertoli hücreleri ve diğer germ hücreleri arasındaki bağlantılar önemli derecede etkilenmeden önce seminifer epitelden olgunlaşmamış spermatidlerin atıldığı not edilmiştir. Olgunlaşmamış spermatidler sertoli hücre kriptlerine gömülü olduğu dönemde, gelişmiş germ hücreleri seminifer epitelyuma bağlı kalıyorken, sekonder spermatositler ve yuvarlak spermatositler tübül lümeninde görülmüştür. Bu çalışmaya göre, IL-1A'nın, Sertoli hücresi ve germ hücrelerinin farklı tipleri arasında yapışmayı etkilediği ve bu sitokinin etkilerinin spermatogenez evrelerine bağlı olduğu belirtilmiştir (78).

Aynı şekilde biz de çalışmamızda, adluminal kompartmandaki spermatogenez seri hücrelerinin farklı evrelerde olgunlaşmadan lümene atıldı gözlemlendi. Buna bağlı olarak Sertoli kriptlerindeki germ hücre yapışmalarının bozulmasına bağlı olarak bu olgunlaşmamış germ hücrelerini ve sertoli hücrelerini kesitlerde belirgindi. Bu da bize yukarıdaki çalışmayla bağlantılı olarak, IL-1A'nın sertoli-germ hücre yapışmasında etkili olduğunu düşündürdü.

Yapılan çalışmalarda uygulama sonrası 15 gün boyunca tübüller mikroskopik olarak incelendiğinde, %50'den fazlasında hasar belirtileri görülmüştür. Zamanla hasar gören tübüllerin sayısının sürekli arttığı, ilerleyen günlerde neredeyse tüm tübüllerin germ hücrelerinden yoksun kaldığı bildirilmiştir (78).

Bizim çalışmamızda da bu çalışmayla örtüşen bulgular saptanmıştır. Işık mikroskop gözlemlerimizde, IL-1A uygulanmasının ardından 15. güne kadar, spermatogenezde değişikliklerin ve hasarın daha da ilerlemiş olduğu görüldü.

Germinal epitelde organizasyon bozukluğunun devam ettiği dikkati çekti. Lümene farklı evrelerdeki germ hücrelerinin olgunlaşmadan döküldükleri saptandı. Bazı tübüllerin tamamen dejenerasyona gittiği bazılarının ise bölünmelerini devam ettirdiği gözlemlendi. Dejenaratif tübüllerin bazılarında, normal yapıdaki germ hücrelerine rastlanmadı. Testis dokusunda interstisyel alanda kanlanmada artış gözlemlendi.

Yapılan çalışmalarda, IL-1A'nın diğer histolojik belirtileri Sertoli hücre vakuolizasyonu, Sertoli hücre iskeleti kollapsı, ve çok çekirdekli germ hücre varlığını kapsayan testis hasarına neden olmuştur (78).

Çalışmamızda bu çalışmayla örtüşen bulgular vardı. Vakuolizasyon, seminifer tübül kollapsı ve mitozun değişik evreleri mevcuttu.

Son çalışmalar, gram negatif bakterilerin hücre duvarından meydana gelen ve IL-1A üretimini uyaran LPS'lerin subletal bir dozuyla ratların intraperitoneal enjeksiyonun sistemik inflamatuvar bir cevap başlattığı (79) ve bunun germ hücre kaybı ve spermatogenik arrestle sonuçlandığı gösterilmiştir (80, 81).

Germ hücre kaybı ve spermatogenik arrest bizim bulgularımızla örtüşüyordu.

IL-1A'nın akut dozundan sonra sertoli-germ hücresi bağlantıları etkilendiği yapılan bir diğer araştırma sonucu belirtilmiştir. Bununla beraber IL-1A uygulanan farelerde tedaviden 90 gün sonraya kadar spermatogenezin düzeldiğine dair işaret alınmadığı belirtilmiştir (81). Seminifer epitelde IL-1A'ya bağlı hasarın aşama aşama geliştiği ve birkaç hafta sürdüğü rapor edilmiştir (82, 83).

Bizim çalışmamızda da aynı şekilde 30. günde hasarın hala devam ettiği teyid edildi. TUNEL metoduyla yaptığımız çalışmada hasarın 30. güne kadar devam ettiği ancak 30. günde diğer günlere kıyasla daha az TUNEL pozitif boyanma olduğu görüldü. Daha az pozitif boyanmanın apoptozisin 15. günden sonra azaldığı görüldü. 30. günde hemen hemen apoptotik hücre yok denilecek kadar azdı. Apoptotik hücreler en fazla 4., 6. ve 8. günlerde gözlemlendi. Dejeneratif tübüller bu günlerde daha yoğunken 15. ve 30. günlerde diğer günlere kıyasla azalmıştı. Bu bize uyguladığımız IL-1A dozunun 30. günde apoptotik etkisinin azalmaya başladığını düşündürdü.

Yapılan diğer çalışmalarda, IL-1A, TNF ve TGFB arasındaki karşılıklı etkileşimin sinyal kaskadı diğer in vitro sistemlerde de rapor edilmiştir (84, 84) Bunlar arasındaki etkileşimin testisteki etkisi tam olarak bilinmemektedir. KTB’de bazalden adluminal kompartmana spermatogenezin ilerlemesi çok karışık bir olaydır ve bir sürü oyuncuya ihtiyaç duyulur. Bununla beraber testis içine IL-1A, TNF ya da TGFB’nin akut dozlarının iletilmesiyle KTB’nin açıldığı görülmüştür. Bütün bu bilgiler ışığında IL-1A’nın KTB’nin açılmasını, membran protein seviyelerinde değişiklik yapmadan, aktin hücre iskeletine etki ederek kolaylaştırdığını desteklediği söylenmektedir. Oysa TNF ve TGFB var olan transmembran protein seviyelerini azaltarak etki gösterdiği rapor edilmiştir (78).

Biz de çalışmamızda IL-1A’nın sertoli hücreleri ve germ hücreleri arasındaki ilişkiyi bozduğunu gözlemledik. Dolayısıyla bu da bize KTB’nin bütünlüğünün bozulduğunu düşündürdü.

Bazı kaynaklarda IL-1A’nın spermatogenezde testiküler hücre fonksiyonlarının bir düzenleyicisi gibi rol aldığı belirtilmiştir (86). IL-1A’nın

etkilerinin doza bağılı olarak testis dokusunu olumsuz yönde etkilediği ve semnifer tübülde hasara yol açtığı belirtilmiştir. IL-1A'nın letal dozlarında, tekrarlanmış 3 doz 250 ng intratestiküler enjeksiyonunun yapıldığı çalışmada, seminifer tübül dejenerasyonuna yol açtığı ve KTB bariyerini olumsuz etkilediği uygulama sonrası 90. güne kadar tübül dejenerasyonunun devam ettiği bildirilmiştir (78).

Biz de çalışmamızda tek doz 250 ng IL-1A'nın intratestiküler enjeksiyonu sonrası 30. günde apoptozisin azalmasının doza bağılı olduğunu düşünmekteyiz.

Deneyssel varikosel ile IL-1A'nın ilişkilendirildiği çalışmada, histolojik hasarın doza bağımlı olarak IL-1A'nın aşırı ekspresyonuyla ilişkili olduğu sonucuna varılmış ancak değişikliklerin mekanizması ile ilgili ileri çalışmaların yapılması gerektiği not edilmiştir (86) .

Sonuç olarak, IL-1A'nın bu dozda belirgin histopatolojik değişikliklere yol açtığı, hasarın şiddeti azalsa da tamamen geri dönüşümlü olarak düzelmediği, apoptozisin 15. güne kadar artıp 30. günde artmadığı gözlemlendi. Germ hücrelerinin tübül lümenine olgunlaşmadan geçmesi bize infertilitenin oluşabileceğini düşündürdü. Buna rağmen bu değişikliklerin mekanizmasının iyi anlaşılabilmesi için ileri çalışmalar yapılması gerekmektedir.

KAYNAKLAR

1. Arıncı K, Elhan A. (1997). Anatomi. Güneş Kitabevi, Ankara. Sayfa 75, 160, 417-422.
2. Junqueira L.C., Carneiro J, Temel histoloji, Teks&Atlas. Solakoğlu S. Aytekin Y. (Çeviri Editörler) Nobel Tıp Yayınevi 2009: 379.
3. Özel HB, Tek Taraflı Testis Torsiyonunda Karşı Testiste Testiküler Anjiyotensin Dönüştürücü Enzim Aktivitesindeki Değişimlerin Histolojik ve Histoşimik Olarak Değerlendirilmesi. Doktora Tezi, Elazığ: Fırat Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2009.
4. Moore KL, Persaud TVN. Klinik Yönleri ile İnsan Embriyolojisi. Yıldırım M, Okar İ, Dalçık H (Editörler). Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul. 2002: 244,263,323-325, 730.
5. Şeftalioğlu A. (1998). Genel ve Özel İnsan Embriyolojisi. Tıp ve Teknik Yayıncılık, Ankara. Sayfa 328-330, 346-350.
6. Ross MH, Pawlina W. (2006). Histology. A Text and Atlas with Correlated Cell and Molecular Biology. Taylor C, Scogna KH, Ajello JP (Editörler). Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia. Sayfa 730.
7. Junqueira L.C., Carneiro J, Temel histoloji, Teks&Atlas. Solakoğlu S. Aytekin Y. (Çeviri Editörler) Nobel Tıp Yayınevi 2002: 418-429
8. <http://www.ceessentials.net/article42.html>
9. http://www.cilginbiyologlar.comphotogallery.phpalbum_id=30
10. Mruk DD, Cheng CY. Sertoli-Sertoli and Sertoli-germ cell interactions and their significance in germ cell movement in the seminiferous epithelium during spermatogenesis. Endo cr Rev 2004; 25:747-806.
11. Kenehara H, Song K, Ueda H, Shiota N, Azuma H, Katsuoka Y, Miyazaki H, Miyazaki M. Involvement of angiotensin II receptor subtypes during testicular development in rats. Int J Androl 1998;21(4): 186-195.
12. <http://www.mc.vanderbilt.edu/histologylabmanual2002>
13. Eroschenco VP, Di Fiore. Histoloji Atlası Fonksiyonel İlişkileriyle, Demir R. (Çeviren). 10. Baskı, Boston: Palme Yayıncılık, Ankara. 2008.
14. Young B, Heath JW, Stevens A, Lowe JS, Deakin PJ. Wheater's Functional Histology. A Text and Color Atlas. P. 328-336. Churchill Livingstone, Edinburg, 2000.
15. Jangueria LC., Carneiro J, Kelley RO. Temel Histoloji. Aytekin Y, SolakoğluS, Hışalı B. (Çeviri Editörler), Barış Kitabevi,1998.
16. Abbas A K, Lichtman A H. Temel İmmünoloji İmmün Sistem İşlev ve Bozuklukları, Bölüm 2 Doğal Bağışıklık. s:34 istanbul medikal yayıncılık 2008.
17. Gillis S, Williams DE. 1998: Cytokine therapy: lessons learned and future challenges. Current Opinion in Immunology 10,501-3.
18. Kılıçturgay K. İmmünoloji 2003 Nobel & Güneş Yayınevi,sf:113.

19. Pike MC Synderman R : Structure and function of monocytes and macrophages. In : Arthritis and allied conditions. McCarty DJ, Koopman WJ (Eds). Lea and Febiger pp : 347-375, 1993.
20. Kilpatrick L, Haris MC. Cytokines and the inflammatory response in: Polin RZ, Fox WW (eds). Fetal and Neonatal Physiology (9th ed). Philadelphia: WB Saunders, 1998: 1967-1979.
21. Clemens, M.J., Cytokines, Oxford, 1991 Bios Scientific Publishers Ltd., 57-75.
22. Poole AR : Cartilage in health and disease. In : Arthritis and allied conditions. Mc Carty DJ, Koopman WJ (Eds). Lea and Febiger pp : 279-333, 1993.
23. Suzuki N Kansas G Engleman EG : Lymphocytes. In : Arthritis and allied conditions. McCarty DJ, Koopman WJ (Eds). Lea and Febiger pp : 377-387, 1993.
24. Abul K. Abbas, Andrew H. Lichtman. Cellular and molecular immunology, 5th, Ed. Saunders, 243-275, Erten G. (Çeviri Editörü), 2003.
25. Peter J. Delves, Seamus J. Martin, Dennis R. Burton, Ivan M. Roitt, Temel İmmünoloji 2008, Efektör Hücrelerin Oluşumu: 187
26. Unless else specified in boxes, then ref is: Lippincott's Illustrated Reviews: Immunology. Paperback: 384 pages. Publisher: Lippincott Williams & Wilkins; (July 1, 2007). Language: English. ISBN: 0781795435. ISBN: 978-0781795432. Page 68
27. Baggiolini M., Dewald B, Moser B, Human chemokines: an update. Ann Rev Immunol 1997; 675-700.
28. Dinarello CA. Cytokines as endogenous pyrogens. J Infect Dis 1999;179:S294–S304. [PubMed:10081499]
29. Khan SA, Khan SJ, Dorrington JH. Interleukin-1 stimulates deoxyribonucleic acid synthesis in immature rat Leydig cells in vitro. Endocrinology 1992;131:1853-57
30. Jegou B, Cudicini C, Gomez E, Stephan JP. Interleukin-1, interleukin-6 and germ cell-Sertoli cell cross-talk. Reprod Fertil Dev 1995;7:723-30
31. March CJ, Mosley B, Larsen A, Cerretti DP, Braedt G, Price V, Gillis S, Henney CS, Kronheim SR, Grabstein K, et al. Cloning, sequence and expression of two distinct human interleukin-1 complementary DNAs. Nature 1985;315:641–647. [PubMed: 2989698]
32. Allan SM, Tyrrell PJ, Rothwell NJ. Interleukin-1 and neuronal injury. Nat Rev Immunol 2005;5:629–640. [PubMed: 16034365]
33. Auron PE, Webb AC, Rosenwasser LJ, Mucci SF, Rich A, Wolff SM, Dinarello CA. Nucleotide sequence of human monocyte interleukin 1 precursor cDNA. Proc Natl Acad Sci U S A 1984;81:7907–7911. [PubMed: 6083565]
34. Lomedico PT, Gubler U, Hellmann CP, Dukovich M, Giri JG, Pan YC, Collier K, Semionow R, Chua AO, Mizel SB. Cloning and expression of murine interleukin-1 cDNA in Escherichia coli. Nature 1984;312:458–462. [PubMed: 6209582]

35. Huising MO, Stet RJ, Savelkoul HF, Verburg-van Kemenade BM. The molecular evolution of the interleukin-1 family of cytokines; IL-18 in teleost fish. *Dev Comp Immunol* 2004;28:395–413.[PubMed: 15062640]
36. Thornberry NA, Bull HG, Calaycay JR, Chapman KT, Howard AD, Kostura MJ, Miller DK, Molineaux SM, Weidner JR, Aunins J, et al. A novel heterodimeric cysteine protease is required for interleukin-1 beta processing in monocytes. *Nature* 1992;356:768–774. [PubMed: 1574116]
37. Colotta F, Re F, Muzio M, Bertini R, Polentarutti N, Sironi M, Giri JG, Dower SK, Sims JE, Mantovani A. Interleukin-1 type II receptor: a decoy target for IL-1 that is regulated by IL-4. *Science* 1993;261:472–475. [PubMed: 8332913]
38. Mantovani A, Locati M, Vecchi A, Sozzani S, Allavena P. Decoy receptors: a strategy to regulate inflammatory cytokines and chemokines. *Trends Immunol* 2001;22:328–336. [PubMed: 11377293]
39. Dinarello CA. The role of the interleukin-1-receptor antagonist in blocking inflammation mediated by interleukin-1. *N Engl J Med* 2000;343:732–734. [PubMed: 10974140]
40. Dinarello CA. Interleukin-18 and the pathogenesis of inflammatory diseases. *Semin Nephrol* 2007;27:98–114. [PubMed: 17336692]
41. Barksby HE, Lea SR, Preshaw PM, Taylor JJ. The expanding family of interleukin-1 cytokines and their role in destructive inflammatory disorders. *Clin Exp Immunol* 2007;149:217–225. [PubMed:17590166]
42. Schmitz J, Owyang A, Oldham E, Song Y, Murphy E, McClanahan TK, Zurawski G, Moshrefi M, Qin J, Li X, Gorman DM, Bazan JF, Kastelein RA. IL-33, an interleukin-1-like cytokine that signals via the IL-1 receptor-related protein ST2 and induces T helper type 2-associated cytokines. *Immunity* 2005;23:479–490. [PubMed: 16286016]
43. Sims JE, Nicklin MJ, Bazan JF, Barton JL, Busfield SJ, Ford JE, Kastelein RA, Kumar S, Lin H, Mulero JJ, Pan J, Pan Y, Smith DE, Young PR. A new nomenclature for IL-1-family genes. *Trends Immunol* 2001;22:536–537. [PubMed: 11574262]
44. Cudicini C, Lejeune H, Gomez E. Human Leydig cells and Sertoli cells are producers of interleukin-1 and -6. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82:1426–1433.
45. Gerard N, Syed V, Bardin W. Sertoli cells are the site of interleukin-1a synthesis in rat testis. *Mol Cell Endocrinol* 1991; 82:R13–16.
46. Wang JE, Josefsen GM, Hansson V, Haugen TB. Residual bodies and IL-1a stimulate expression of mRNA for IL-1a and IL-1 receptor type I in cultured rat Sertoli cells. *Mol Cell Endocrinol* 1998; 137:139–144.
47. Zeyse D, Lunenfeld E, Prinsloo I, Huleihel M. Regulation of Interleukin-1 receptor antagonist production by Sertoli cells. In: Program of the Conjoint annual meeting of the American Society for Reproductive Medicine and the Canadian Fertility and Andrology Society;1999; Toronto, Ontario, Canada.

48. Soeder O, Syed V, Callard GV. Production and secretion of an interleukin- 1-like factor is stage-dependent and correlates with spermatogonial DNA synthesis in the rat seminiferous epithelium. *Int J Androl* 1991; 14:223–231.
49. Stephan JP, Syed V, Jegou B. Regulation of Sertoli cell IL-1 and IL-6 production in vitro. *Mol Cell Endocrinol* 1997; 134:109–118.
50. Takao T, Mitchell WM, Tracey DE, DeSouza EB. Identification of interleukin-1 receptors in mouse testis. *Endocrinology* 1990; 127:251–258.
51. Hoeben E, Van-Damme J, Put W. Cytokines derived from activated human mononuclear cells markedly stimulate transferrin secretion by cultured Sertoli cells. *Endocrinology* 1996; 137:514–521.
52. Hoeben E, Wuyts A, Proost P. Identification of IL-6 as one of the important cytokines responsible for the ability of mononuclear cells to stimulate Sertoli cells functions. *Mol Cell Endocrinol* 1997; 132:149–160.
53. Roux-Lombard P. The interleukin-1 family. *Eur Cytokine Netw* 1998;9:565–567.
54. Lin T, Guo H, Calkins JH. Recombinant monocyte derived Interleukin-1 receptor antagonist reverses inhibitory effects of Interleukin-1 on Leydig cell steroidogenesis. *Mol Cell Endocrinol* 1991; 78:205–209.
55. Jegou B, Cudicini C, Gomez E, Stephan JP. Interleukin-1, interleukin-6 and the germ cell-Sertoli cell cross-talk. *Reprod Fertil Dev* 1995;7:723–730.
56. Karzai AW, Wright WW. Regulation of the synthesis and secretion of transferrin and cycl.protein-2/cathepsin L by mature Sertoli cells in culture. *Biol Reprod* 1992; 47:823–831.
57. <http://en.wikipedia.org/wiki/IL1A>
58. Watanabe N, Kobayashi Y (November 1994). Watanabe N, Kobayashi Y (Kasım 1994). "Selective release of a processed form of interleukin 1 alpha". *Cytokine* 6 (6): 597–601. doi : 10.1016/1043-4666(94)90046-9 . PMID 7893968 .
59. Huleihel M, Lunenfeld E, Horowitz Z, Levy A, potashnik G, Glezerman M. Production of Interleukin-1- like molecules by human sperm cell. *Fertil Steril* 2000;73:1132-7
60. Hauser C., et al. Interleukin 1 is present in normal human epidermis. *The Journal Immunology*, 1986, 136, 9, 3317-23. *Journal İmmünoloji*, 1986, 136, 9, 3317-23.
61. Barland CO, Zettersten E, Brown BS, Ye J, Elias PM, Ghadially R (February 2004). "Imiquimod-induced interleukin-1 alpha stimulation improves barrier homeostasis in aged murine epidermis" . *J. Invest Dermatol.* 122 (2): 330–6.
62. Feldmann M, Saklatvala J (2001). "Proinflammatory cytokines". In Durum SK, Oppenheim JJ, Feldmann M. *Cytokine reference: a compendium of cytokines and other mediators of host defense* . Boston: Academic Press. pp. 291-306.
63. Dinarello CA (2001). "IL-1 α ". "IL-1 α ". In Durum SK, Oppenheim JJ, Feldmann M. *Cytokine reference: a compendium of cytokines and other mediators of host defense* . Boston: Academic Press. Boston: Academic Press. pp. 307–318.

64. Arend WP, Malyak M, Guthridge CJ, Gabay C (1998). "Interleukin-1 receptor antagonist: role in biology". *Annu. Rev. Immunol.* 16 : 27–55.
65. Moore KW, O'Garra A, de Waal Malefyt R, Vieira P, Mosmann TR (1993). "Interleukin-10". *Annu. "İnterlökin-10". Annu. Rev. Immunol.* 11 : 165–90.
66. Constine LS, Harwell S, Keng P, Lee F, Rubin P, Siemann D (March 1991). "Interleukin 1 alpha stimulates hemopoiesis but not tumor cell proliferation and protects mice from lethal total body irradiation". *Phys.* 20 (3): 447–56.
67. Smith JW, Longo DL, Alvord WG, Janik JE, Sharfman WH, Gause BL, Curti BD, Creekmore SP, Holmlund JT, Fenton RG (March 1993). "The effects of treatment with interleukin-1 alpha on platelet recovery after high-dose carboplatin". *J. Med.* 328 (11): 756–61.
68. Cudicini C, Kercret H, Touzalin AM. Vectorial production of interleukin- 1 and interleukin-6 by rat Sertoli cells cultured in dual chamber compartment system. *Endocrinology* 1997; 1638:2863–2870.
69. Schoch P (2010-05-01). "Synergistic peptide action revitalises skin and hair" *Personal Care Magazine* . <http://www.personalcaremagazine.com>.
70. Haugen, T.B., Landmark, B.F., Josefsen, G.M., Hansson, V., Högset, A., 1994. The mature form interleukin-1 alpha is constitutively ekspressed in immature male germ cells from rat. *Mol. Cell. Endocrinol.* 105, 19-23
71. Okuda, Y., Bardin, C.W., Hodgskin, L.R., Morris, P.L., 1995. İnterleukin-1 α and - β regulate interleulin-6 ekspression in Leydig and Sertoli cells. *Recenr prog. Horm. Res.* 50, 367-372
72. Fenton, M.J., Clark, B.D., collins K.L., Webb, A.C., Rich, A., Auron, P.E. 1987. Transcriptional regulation of the human prointerleukin-1 β gene. *J. Immunol.* 138, 3972-3979.
73. Libby, P., Ordovas, J. M., Auger, K. R., Robbins, A. H., Birinyi, L. K., Dinarello, C. A. Endotoxin and tumor necrosis factor induce interleukin-1 gene expression in adult human vascular endothelial cells. *Am J Pathol.* Aug 1986; 124(2): 179–185.
74. Gérard, N., Syed, V., Jégou B. Lipopolysaccharide, latex beads and residual bodies are potent activators of Sertoli cell interleukin-1 α production. 1992. *Biochemical and Biophysical Research Communications.*185: 154–161.
75. Wang, J. E., Josefsen, G. M., Hansson^b, V., Haugen, T. B. Residual bodies and IL-1 α stimulate expression of mRNA for IL-1 α and IL-1 receptor type I in cultured rat Sertoli cells. 1998. *Molecular and Cellular Endocrinology.*137: 139-144.
76. Mahi-Brown CA, Yule TD, Tung KS. Evidence for active immunological regulation in prevention of testicular autoimmune disease independent of the blood-testis barrier. *Am J Reprod Immunol Microbiol* 1988 Apr;16(4):165-70.
77. Anderson DJ. Cell-mediated immunity and inflammatory processes in male infertility. *Arch Immunol Ther Exp* 1990;38(1-2):79-86.

78. Sarkar, O., Premendu P., Mathur, C., Cheng, Y., Mruk, D.D. Interleukin 1 Alpha (IL1A) Is a Novel Regulator of the Blood-Testis Barrier in the Rat. *Biology of Reproduction* 2008; 78, 445–454.
79. Syed V, Stephan JP, Gerard N, Legrand A, Parvinen M, Bardin CW, Jegou B. Residual bodies activate Sertoli cell interleukin-1a (IL-1a) release, which triggers IL-6 production by an autocrine mechanism, through the lipoxxygenase pathway. *Endocrinology* 1995; 136:3070–3078.
80. O'Bryan MK, Schlatt S, Phillips DJ, de Kretser DM, Hedger MP. Bacterial lipopolysaccharide-induced inflammation compromises testicular function at multiple levels in vivo. *Endocrinology* 2000; 141:238–246.
81. Liew SH, Meachem SJ, Hedger MP. A stereological analysis of the response of spermatogenesis to an acute inflammatory episode in adult rats. *J Androl* 2007; 28:176–185.
82. Li MW, Xia W, Mruk DD, Wang CQ, Yan HH, Siu MK, Lui WY, Lee WM, Cheng CY. Tumor necrosis factor- α reversibly disrupts the bloodtestis barrier and impairs Sertoli-germ cell adhesion in the seminiferous epithelium of adult rat testes. *J Endocrinol* 2006; 190:313–329.
83. Xia W, Mruk DD, Lee WM, Cheng CY. Differential interactions between transforming growth factor- β 3/TbR1, TAB1, and CD2AP disrupt bloodtestis barrier and Sertoli-germ cell adhesion. *J Biol Chem* 2006; 281:6799–6813.
84. Lu T, Tian L, Han Y, Vogelbaum M, Stark GR. Dose-dependent cross-talk between the transforming growth factor- β and interleukin-1 signaling pathways. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007; 104:4365–4370.
85. Janes KA, Gaudet S, Albeck JG, Nielsen UB, Lauffenburger DA, Sorger PK. The response of human epithelial cells to TNF involves an inducible autocrine cascade. *Cell* 2006; 124:1225–1239.
86. Sahin, Z., Celik-Ozenci, C., Akkoyunlu, G., Korgun, E.T., Acar, N., Erdogru, T., Demir, R., Ustunel, İ. Increased expression of interleukin-1 α and interleukin-1 β is associated with experimental varicocele. *2006 Fertility and Sterility* 85:1265–1275.

ÖZGEÇMİŞ

09.02.1986 tarihinde Adapazarı ilinde doğdum. İlk, orta ve lise eğitimimi Malatya ilinde tamamladıktan sonra 2002 yılında Gülhane Askeri Tıp Akademisi (GATA), Hemşirelik Yüksekokulu'nu kazandım ve 2006 yılında Askeri Yüksek Hemşire unvanıyla mezun oldum. 2006-2007 yılları arasında Ankara Gülhane Askeri Tıp Akademisi (GATA)'nde stajyerlik eğitimimi tamamladıktan sonra, 2007 yılında mecburi hizmet süremi tamamlamak üzere Elazığ Asker Hastanesi'ne atandım. Eylül 2009 döneminde Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıp Programı Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalında yüksek lisans programını kazandım. Eylül 2012'de İstanbul Haydarpaşa Gülhane Askeri Tıp Akademisi (GATA) Plastik ve Rekonstrüktif Cerrahi Kliniği'ne atandım ve halen aynı klinikte Askeri Yüksek Hemşire olarak çalışmaktayım.

Askeri Yüksek Hemşire

Zehra Gülşah AKIN