

T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ (TIP)
YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

ARALIKLI AÇLIK BESLENME YAKLAŞIMININ
STREPTOZOTOSİN İLE OLUŞTURULMUŞ DİYABETİK
FARE MODELİNDE TESTİS HASARI ÜZERİNE ETKİSİ

RUKİYE FEYZA SUBAŞI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

Dr. Öğr. Üyesi Kadri Murat GÜRSES

AYDIN-2022

T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ (TIP) YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

ARALIKLI AÇLIK BESLENME YAKLAŞIMININ
STREPTOZOTOSİN İLE OLUŞTURULMUŞ DİYABETİK
FARE MODELİNDE TESTİS HASARI ÜZERİNE ETKİSİ

RUKİYE FEYZA SUBAŞI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

Dr. Öğr. Üyesi Kadri Murat GÜRSES

Bu tez Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından TPF-21045 proje numarası ile desteklenmiştir.

AYDIN-2022

KABUL VE ONAY

T.C. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı (Tıp) Yüksek Lisans Programı çerçevesinde Rukiye Feyza SUBAŞI tarafından hazırlanan “Aralıklı Açlık Beslenme Yaklaşımının Streptozotosin İle Oluşturulmuş Diyabetik Fare Modelinde Testis Hasarı Üzerine Etkisi” başlıklı tez, aşağıdaki jüri tarafından Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 25/11/2021

Üye (T.D.) Dr. Öğr. Üyesi K. Murat GÜRSES Aydın Adnan Menderes ...(imza)...

Üniversitesi

Üye : Prof. Dr. Alpaslan GÖKÇİMEN Aydın Adnan Menderes ... (imza) ...

Üniversitesi

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Nazlı ÇİL Pamukkale Üniversitesi ... (imza) ...

ONAY:

Bu tez Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun görülmüş ve Sağlık Bilimleri Enstitüsünün tarih ve sayılı oturumunda alınan nolu Yönetim Kurulu kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Süleyman AYPAK

Enstitü Müdürü V.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim ve tez çalışmam süresince bilimsel tecrübe ve desteklerini esirgemeyen, bilgi ve katkılarıyla tez çalışmamı yöneten ve yönlendiren, çalışmamızda büyük emeği ve özverisi olan değerli danışman hocam Dr. Öğr. Üyesi Kadri Murat GÜRSES'e,

Çalışmamızın birçok basamağında bilgi ve deneyimini bizimle paylaşan, yol açan ve yol gösteren, her koşulda destekleyen değerli hocam Dr. Öğr. Üyesi Erkan GÜMÜŞ'e,

Multidisipliner alanda çalışmaya ve beslenme biliminin henüz aydınlatılmamış olan birçok alanına yönelmeye teşvik eden değerli lisans hocam Öğr. Gör. Mahmut ÇERİ'ye,

Tüm eğitim hayatım boyunca bana inanan, emek veren ve hiçbir koşulda desteğini esirgemeyen kıymetli annem Nagihan Firdevs SUBAŞI ve değerli babam Şevket SUBAŞI'ya sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	i
TEŞEKKÜR	ii
İÇİNDEKİLER	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	v
ŞEKİLLER DİZİNİ	vi
RESİMLER DİZİNİ	vii
TABLolar DİZİNİ	ix
ÖZET	x
ABSTRACT	xii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1 Diabetes Mellitus	3
2.1.1 Tip 2 Diyabet	3
2.1.2 Tip-2 Diyabetin Komplikasyonları	4
2.1.3. Streptozotosin (STZ)	4
2.2. Testisin Anatomisi, Embriyolojisi ve Histolojisi	5
2.2.1 Testis Anatomisi	5
2.2.2. Testis Embriyolojisi	5
2.2.3. Testis Histolojisi	6
2.2.3.1. Spermatogenez	8
2.3 Diyabete Bağlı Testis Hasarı	9
2.3.1 İnsülin ve Metabolik Etkileri	9
2.3.2 Diyabet ve Oksidatif Stres	9
2.3.3 Diabetes Mellitus ve Erkek İnfertilitesi	10
2.4. Aralıklı Açlık	11
3. GEREÇ VE YÖNTEM	14
3.1. Gereç	14
3.1.1. Cihazlar	14
3.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler	14
3.1.3. Hayvan Materyali	14

3.2. Yöntem	15
3.2.2. Deneysel Diyabetin Oluşturulması.....	16
3.2.2.1. Kurum İçi Hazırlanmış Yüksek Yağlı Diyet (%40 Yağlı)	16
3.2.2.2. STZ Enjeksiyonu.....	19
3.2.3 Aralıklı Açlık Beslenme Modelinin Uygulanması (16/8)	22
3.2.4. Besin Tüketim Kaydı.....	23
3.2.5. Vücut Ağırlıklarının Ölçümü	24
3.2.6. Kan Glukoz Ölçümü.....	24
3.2.7. Deneyin Sonlandırılması ve Dokuların Alınması	24
3.2.8. Testis Ağırlıklarının Ölçümü	25
3.2.9. Kan Parametrelerinin Analizi (HbA1c, Testosteron)	25
3.2.10. Sperm Sayımı	25
3.2.11 Kesitlerin Alınması ve Hematoksilen-Eozin Boyaması	27
3.2.12. İstatistiksel Analiz	28
4. BULGULAR.....	29
4.1 Farelerin Vücut ve Testis Ağırlıklarının Ölçümü ve Karşılaştırılması	29
4.2 Farelerin Kan Glukozu, HbA1c Düzeyleri ve Besin Tüketim Miktarlarının Ölçümü ve Karşılaştırılması	34
4.3 Histopatolojik Bulguların Değerlendirilmesi	40
4.4. Sperm Parametrelerinin ve Serum Testosteron Düzeylerinin Değerlendirilmesi	52
5. TARTIŞMA.....	60
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	63
KAYNAKLAR	64
EKLER	70
Ek 1 (ADÜ-HADYEK).....	70
BİLİMSEL ETİK BEYANI	71
ÖZ GEÇMİŞ.....	72

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AA :Aralıklı açlık

DM :Diabetes mellitus

DM+AA :Aralıklı Açlık ile Tedavi Edilen Diyabetik Fareler

i.p. :İntraperitoneal

M :Molar

mM :Milimolar

STZ :Streptozotosin

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Testisin şematik gösterimi (Ross ve Pawlina, 2006).	7
Şekil 2. Testis seminifer tübül ve interstisyel bağ dokusu yapısı (Junqueira, 2006).....	8
Şekil 3. Aralıklı açlığın mekanizmalarından bazıları (Banu Sağlık Bilimleri Ve Araştırmaları Dergisi, 2021).	12
Şekil 4. Farelerin ilk vücut ağırlıklarının dağılımını gösteren grafik.	31
Şekil 5. Farelerin son vücut ağırlıklarının dağılımını gösteren grafik.	32
Şekil 6. Farelerin testis ağırlıklarının dağılımını gösteren grafik.	33
Şekil 7. Farelerin rölatif testis ağırlıklarının dağılımını gösteren grafik.	34
Şekil 8. Farelerin kan glukoz düzeylerinin dağılımını gösteren grafik.	36
Şekil 9. Farelerin Hba1c düzeylerinin dağılımını gösteren grafik.	37
Şekil 10. Farelerin bazal besin tüketim miktarlarının dağılımını gösteren grafik.	38
Şekil 11. Farelerin 4. hafta besin tüketim miktarlarının dağılımını gösteren grafik.	39
Şekil 12. Farelerin sperm sayılarının dağılımını gösteren grafik.	56
Şekil 13. Farelerin hareketli sperm oranlarının dağılımını gösteren grafik.	57
Şekil 14. Farelerin anormal morfolojiye sahip sperm oranlarının dağılımını gösteren grafik.	58
Şekil 15. Farelerin serum testosteron düzeyleri dağılımını gösteren grafik	59

RESİMLER DİZİNİ

Resim 1. Araştırma kapsamında kullanılan <i>balb-c</i> fareler ve deneysel gruplar.	15
Resim 2. Standart fare yeminin bileşenleri	16
Resim 3. Hayvansal yağ.....	17
Resim 4. Toz haline getirilmiş standart yem, hayvansal yağ ve su ile karıştırılan kurum içi hazırlanmış yüksek yağlı diyet.....	18
Resim 5. Yüksek yağlı diyet (%40) pelletleri	18
Resim 6. Kafese koyulan pelletlerin görüntüsü	19
Resim 7. Işığa hassasiyeti nedeniyle karanlık ortamda hazırlanan stz	20
Resim 8. Farelere stz enjeksiyonu	21
Resim 9. Farelerin kuyruk veninden glikometre ile kan glukoz ölçümü.....	22
Resim 10. Açlık periyodundaki fareler.....	23
Resim 11. Sperm eldesi amacıyla sıvazlanan vaz deferens	26
Resim 12. Kontrol grubu testis kesitinin görünümü (h&e)	40
Resim 13. Kontrol grubu testis kesitinin görünümü (h&e)	41
Resim 14. Sham grubu testis kesitinin görünümü (h&e).....	42
Resim 15. Sham grubu testis kesitinin görünümü (h&e).....	43
Resim 16. Dm grubuna ait testis kesitinde ok ile gösterilen vakuol.	44
Resim 17. Dm grubuna ait testis kesitinde ok ile gösterilmiş lümeneye dökülmüş hücreler	44
Resim 18. Dm grubuna ait testis kesitinde lümeninde hiç spermatozoa olmayan ok ile gösterilmiş tübül ve yıldız ile gösterilmiş vakuol.	45
Resim 19. Dm grubuna ait testis kesitinde lümeninde hiç spermatozoa bulunmayan seminifer tübüller.....	46
Resim 20. Dm grubuna ait testis kesitinde ok ile gösterilen vakuoller ve yıldız ile gösterilen lümeni kaplayan bir kitle halinde gözlemlenen spermatojenik hücreler.	47
Resim 21. Dm+aa grubu testis kesitinin görünümü	48
Resim 22. Dm+aa grubu testis kesitinin görünümü	49
Resim 23. Dm+aa grubu testis kesitinin görünümü	50
Resim 24. Dm+aa grubu testis kesitinin görünümü	51
Resim 25. Kontrol grubu spermleri	53
Resim 26. Sham grubu spermleri	54

Resim 27. Dm kontrol grubu spermleri	54
Resim 28. Dm+aralıklı açlık grubu spermleri.....	55

TABLULAR DİZİNİ

Tablo 1. Bil-yem laboratuvar hayvan yemi özellikleri.....	17
Tablo 2. Doku takip yöntemi	24
Tablo 3. H-E boyama yöntemi.....	27
Tablo 4. Farelerin vücut ve testis ağırlıklarının karşılaştırılması.....	29
Tablo 5. Farelerin kan glukoz ve HbA1c düzeyleri ile haftalık ortalama besin tüketim miktarlarının karşılaştırılması.	35
Tablo 6. Farelerin sperm parametrelerinin ve serum testosteron düzeylerinin karşılaştırılması	52

ÖZET

ARALIKLI AÇLIK BESLENME YAKLAŞIMININ STREPTOZOTOSİN İLE OLUŞTURULMUŞ DİYABETİK FARE MODELİNDE TESTİS HASARI ÜZERİNE ETKİSİ

Subaşı RF. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Histoloji ve Embriyoloji (Tıp) Programı, Yüksek Lisans Tezi, Aydın, 2022.

Amaç: Testis hasarı ve sperm parametrelerinde bozulma diyabetin neden olduğu önemli istenmeyen etkilerden birisidir. Hem klinik çalışmalar hem de hayvan çalışmaları diyabete bağlı olarak yapısal testis hasarı oluştuğunu ve bu hasarın sperm kalitesini bozarak fertilitate problemlerine yol açtığını göstermiştir. Bu nedenle diyabetik testis hasarının önlenmesi, bu hasta grubunda fertilitenin korunması açısından önem taşımaktadır. Günümüzde fertilitayla ilişkili problemlerin çözümünde sıklıkla yardımcı üreme teknikleri kullanılmaktadır ve bu yöntemler oldukça maliyetlidir. Buna karşın diyabetik testis hasarının önlenmesinde, son derece basit ve düşük maliyetli bir yöntem olan aralıklı açlık gibi diyet kontrolü yaklaşımlarının etkinliğini araştıran herhangi bir çalışma literatürde bulunmamaktadır. Bu çalışmada aralıklı açlığın diyabetik fare modelinde testis hasarı ve sperm kalitesi üzerindeki etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Çalışmada Balb-c cinsi 32 tane erkek fare kullanıldı. Fareler kontrol grubu, sham grubu, diyabetik kontrol grubu ve aralıklı açlık grubu olmak üzere rastgele 4 gruba ayrıldı. Diyabet oluşturulması amacıyla farelere 4 hafta süre ile yüksek yağlı diyet uygulandı. Sonrasında tek doz 180 mg/kg intraperitoneal streptozotosin enjeksiyonu yapıldı. Enjeksiyondan 72 saat sonra kan glukoz düzeyleri ölçüldü. Kan glukoz düzeylerinin 250 mg/dL'den yüksek olması halinde farelerde diyabet geliştiği teyit edildi. Aralıklı açlık grubundaki farelere 4 hafta boyunca günlük 16 saat açlık, 8 saat beslenme periyodu uygulandı. Deney sonunda fareler sakrifiye edildi ve farelerden kan, testis dokusu ve sperm örnekleri alındı.

Bulgular: Histopatolojik inceleme sonucunda, aralıklı açlık uygulanan farelerde diyabetik farelere göre yapısal testis hasarında belirgin iyileşme saptandı. Buna ek olarak, aralıklı açlık grubunda sperm sayısında ve motilitesinde artış görülürken; anormal sperm oranında ise

azalma saptandı. Aralıklı açlık grubunda kan glukoz düzeylerinde kısmi bir düşüş görülmekle birlikte; bu düşüş istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı.

Sonuç: Elde edilen veriler aralıklı açlık uygulamasının diyabetik fare modelinde yapısal testis hasarı ve sperm parametleri üzerinde olumlu etkilerinin olduğunu ortaya koymuştur.

Anahtar kelimeler: Aralıklı Açlık, Sperm Analizi, Testis Hasarı, Tip 2 Diyabet

ABSTRACT

THE EFFECT OF INTERMITTENT FASTING NUTRITION APPROACH ON TESTICULAR DAMAGE IN STREPTOZOTOCIN-INDUCED DIABETIC MICE MODEL

Subaşı RF. Aydın Adnan Menderes University, Health Sciences Institute, Histology and Embryology (Medicine) Program, Master Thesis, Aydın, 2022.

Objective: Testicular damage and impaired sperm parameters are important complications of diabetes mellitus. Both clinical studies and animal studies have revealed that structural testicular damage occurs due to diabetes, and this damage leads to fertility problems by impairing sperm quality. Therefore, prevention of diabetic testicular damage is an important issue in this patient group to preserve fertility. Today, assisted reproductive techniques are frequently used in the treatment of fertility-related problems and these methods are quite expensive. On the other hand, there is no study in the literature investigating the effectiveness of simple and cost-efficient dietary control approaches such as intermittent fasting in the prevention of diabetic testicular damage. In the current study, we aimed to assess the effects of intermittent fasting on testicular damage and sperm quality in a mice model of streptozotocin induced diabetes.

Material and Methods: 32 male Balb-c mice were used in the study. Mice were randomly divided into 4 groups: control group, sham group, diabetic control group and intermittent fasting group. To induce diabetes, mice were given a high-fat diet for 4 weeks. Afterwards, a single dose of 180 mg/kg streptozotocin was injected intraperitoneally. Blood glucose levels were measured 72 hours after injection and diabetes was confirmed if blood glucose levels were higher than 250 mg/dL. A daily 16-hour fasting and 8-hour feeding period was applied to the mice in the intermittent fasting group for 4 weeks. At the end of the experiment, the mice were sacrificed and blood, testicular tissue and sperm samples were taken.

Results: As a result of histopathological examination, a significant improvement in structural testicular damage was detected in intermittent fasting mice compared to diabetic mice. In addition, we detected an increase in sperm count and motility, and a decrease in the percentage of abnormal sperm in the intermittent fasting group. Although there was a partial

decrease in blood glucose levels in the intermittent fasting group; this decrease was not statistically significant.

Conclusion: Our findings revealed that intermittent fasting ameliorates structural testicular damage and improves sperm quality in the diabetic mice model.

Keywords: Intermittent Fasting, Sperm Analysis, Testicular Damage, Type 2 Diabetes

1. GİRİŞ

Diabetes mellitus; nefropati, retinopati, nöropati, kardiyovasküler hastalıklar ve infertilite gibi komplikasyonları içeren ciddi bir sağlık problemidir (Jangir ve Jain, 2014). Pankreas tarafından üretilen insülin hormonunun eksikliğinde veya hücrelerin insülini etkin bir şekilde kullanamadığı durumlarda ortaya çıkar.

2010 ile 2030 arasında, gelişmekte olan ülkelerde diyabetli yetişkin sayısında %69, gelişmiş ülkelerde ise %20 artış olacağı düşünülmektedir (Shaw, 2009). Tip-2 diyabetli bireyler, diyabetli bireylerin yaklaşık %90-95'ini oluşturmaktadır (Classification and Diagnosis of Diabetes, 2015).

Fertiliteyle ilgili yapılan çalışmalarda, DM'nin, fertilitede azalmayla yakından ilişkili olduğu gösterilmektedir (Dias ve diğerleri, 2014; Jangir ve Jain, 2014). Üreme çağındaki birçok diyabetli erkeği etkiliyor olmasıyla, yakın gelecekte DM'ye bağlı fertilitate problemlerinde artış öngörülmektedir (IDF Diabetes Atlas: Sixth Edition, 2014).

Hayvan deneyleri ve diyabetik hastalarda yapılan çalışmalarda erkek üreme sisteminde DM'ye bağlı endokrin bozukluklar, nöropati ve artmış oksidatif stresi içeren değişikliklerden sorumlu moleküler mekanizmalar araştırılmıştır (La Vignera ve diğerleri, 2012). Bu çalışmalarda DM'nin erkek üreme fonksiyonlarında DNA hasarlı spermere neden olarak sperm kalitesinde bozulmaya, azalmış sperm motilitesi ve semen hacmine, ayrıca düşük testosteron düzeyleri ve testiküler disfonksiyon gibi olumsuz etkilere sahip olduğu gösterilmiştir (Alves ve diğerleri, 2013; Dias ve diğerleri, 2014; Jangir ve Jain, 2014; Kanter ve diğerleri, 2012).

Diyabetik erkek hastalarda, subfertilite ve/veya infertiliteye neden olan problem, değişmiş sperm motilitesi, morfolojisi, konsantrasyonu ve DNA fragmentasyonu gibi normal olmayan sperm parametreleri görülmesine neden olan kusurlu sperm kalitesidir (Dias ve diğerleri, 2014). Bu değişimlere ise DM'un sebep olduğu oksidatif stres ve hormonal değişikliklerin yol açtığı düşünülmektedir.

Tüm bu bilgiler ışığında çalışmamızda beslenme yaklaşımlarının diyabetik testis hasarı üzerine olası tedavi edici etkilerini araştırdık. Çalışmadan elde edilen pozitif sonuçlar

diyabetik hastalarda fertilité ile ilişkili problemlerin önlenmesinde son derece basit uygulanabilecek, herhangi bir masraf gerektirmeyen ve sağlık sistemi üzerinde herhangi bir mali yük oluşturmayacak etkili bir yaklaşımın ortaya koyulmasını sağlayacaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Diabetes Mellitus

Diabetes mellitus, insülin hormonunun yetersizliği ya da insülin direnci ile oluşan, hiperglisemi ile kendini belli eden, karbonhidrat, yağ ve protein metabolizmasında bozukluk ile karakterize, birçok komplikasyona sebep olan kronik bir hastalıktır.

Amerikan Diyabet Birliği (ADA)'nin tanı kriterlerine göre; glukozüri, polidipsi, poliüri, ketonüri ve açıklanamayan ağırlık kaybı gibi semptomlar ile birlikte, rastgele ölçülen plazma glukoz düzeyinin ≥ 200 mg/dl olması, 8 saatlik açlıktan sonra ölçülen açlık kan glukozunun ≥ 126 mg/dl olması ya da 75 gr glukoz veya eşdeğerini içeren glukoz yükü alımından sonra 2. saatte ölçülen plazma glukoz düzeyinin ≥ 200 mg/dl olması ile DM tanısı konmaktadır.

Diabetes mellitus, hem gelişmiş hem de gelişmekte olan ülkeleri etkilemekte ve tüm dünyada yaygın olarak görülmekte olan, önemli küresel sağlık sorunlarından biridir (Zimmet ve diğerleri, 2016). Diyabete bağlı olarak ortaya çıkan komplikasyonlarıyla birlikte sağlık sektöründe ciddi bir yük oluşturmaktadır. 2010 ile 2030 arasında, gelişmekte olan ülkelerde diyabetli yetişkin sayısında %69, gelişmiş ülkelerde ise %20 artış olacağı öngörülmektedir. (Shaw ve diğerleri, 2010)

2.1.1 Tip 2 Diyabet

Tip 2 diyabet; insüline bağımlı olmayan diyabet olarak da tanımlanır. İnsülin eksikliği nedeniyle organizma, karbonhidrat, yağ ve proteinden yeterince yararlanamaz. Hücre reseptör defektine bağlı olarak insülin, hücre içerisine alınamaz ve periferik dokularda insülin etkisi yetersizdir. Pankreas, kan-glukoz seviyesine yanıt olarak yeterli miktarda insülin salgılayamaz ve karaciğerde glukoz üretiminde artış meydana gelir. Tip-2 diyabetli bireyler, diyabetli bireylerin yaklaşık %90-95'ini oluşturmaktadır (Classification and Diagnosis of Diabetes, 2015).

2.1.2 Tip-2 Diyabetin Komplikasyonları

Komplikasyonlar, kan glukozunun sürekli olarak yüksek düzeyde seyretmesi ve dokuların hasar görmesi sonucunda görülmektedir. Tip-2 diyabet, mikrovasküler ve makrovasküler adı verilen iki tip komplikasyonu içinde barındıran kompleks bir hastalıktır.

Mikrovasküler komplikasyonlar ile makrovasküler komplikasyonlar arasındaki temel ayrım, mikrovasküler komplikasyonların makrovasküler komplikasyonlara göre göreceli olarak daha küçük kan damarlarını etkilemesinden ileri gelmektedir (Alaboud ve diğerleri, 2016). Bu komplikasyonlar, bireylerin sağlığını olumsuz etkilemekte ve yaşam kalitesini düşürmektedir. Sağlık sistemi üzerinde mali bir yük oluşturmaktadır (Vaidya ve diğerleri, 2015).

Diyabetli bireylerde oluşan komplikasyonlar üzerinde tıbbi beslenme tedavisinin medikal tedavinin sağladığı etki kadar faydalı olduğu bilinmektedir. Hastalık oluşumundan önce, tıbbi beslenme tedavisinin ana amacı öncelikle bireyi diyabetten korumaktır. Hastalık oluştuktan sonra komplikasyonların önlenmesi veya geciktirilmesi, makrovasküler komplikasyon riskinin azaltılması, kan parametrelerinin optimal seviyede tutulması ve hastalık sürecinin iyi yönetilmesi için önemli bir rol oynamaktadır. (Khazrai ve diğerleri, 2014)

Çalışmamızın konusu diyabetin komplikasyonlarından biri olan testis hasarının iyileştirilmesinde rol oynayabilecek tıbbi beslenme tedavileridir.

2.1.3. Streptozotosin (STZ)

Deneysel diyabet modelleri günümüzde çeşitli hastalıklara tanı konulması, patogenezlerinin açıklanması, hastalıklardan korunma ve uygun tedavi yöntemlerinin incelenebilmesi için kullanılmaktadır.

Kimyasal ajanların kullanılmasıyla oluşturulan deneysel diyabet modellerinde Alloksan, Streptozotosin (STZ), çinko şelatörleri (8-hidroksikinolin, dithizone), diyet nitrozaminleri gibi diyabetojenik toksinler kullanılmıştır. Günümüzde yaygın olarak kullanılan diyabetojenik toksinler STZ ve Alloksandır. (Kurçer ve Karaoğlu, 2012) STZ

pankreatik β hücrelerine karşı spesifik toksisite göstererek β hücrelerinde harabiyete neden olmaktadır.

Deneysel diyabet modeli, yaygın olarak pankreatik β hücrelerine karşı spesifik toksisite gösteren STZ ile oluşturulmaktadır. Kimyasal adı 2-Deoksi-2-(3-Metil-3-Nitrozoüredio)-D-Glikopiranoz olan STZ, streptomycetes achromogenes tarafından sentezlenen diyabetojenik özellikleri olan geniş spektrumlu bir antibiyotiktir.

STZ, pankreas β hücrelerinde oluşturduğu hasar sonucu gelişen hipoinsülinemi, hiperglisemi ile insülin bağımlı tip 1 ve insülin bağımlı olmayan tip 2 diyabet modelini oluşturmak için sıklıkla kullanılmaktadır (Kanter ve diğerleri, 2012)

2.2. Testisin Anatomisi, Embriyolojisi ve Histolojisi

2.2.1 Testis Anatomisi

Testisler, karın boşluğunun dışında asılı olarak skrotum içine yerleşmiş, sperm üretimi yapan bir çift erkek üreme organıdır. Skrotum iç skrotal septumla iki bölüme ayrılır. Testisler bu boşluklarda bulunur.

Her bir testis yaklaşık olarak 4 cm uzunluğunda, 2-3 cm genişliğinde ve 3 cm kalınlığında oval şekillidir. Ağırlığı ise yaklaşık olarak 10-15 gramdır. İdeal spermatogenez için testis sıcaklığı vücut ısısından 2-3 °C düşük, yani 34-35 °C'dir.

Testisin, sperm üretimi ve androjen üretimi olmak üzere başlıca iki fonksiyonu vardır (Hassan ve Killick, 2003)

2.2.2. Testis Embriyolojisi

Embriyonal gelişimin 7. haftasına kadar gonadlar henüz dişiye veya erkeğe ait morfolojik karaktere sahip değildirler (Sadler, 2005). Testisler ve overler; mezoderm epitel, embriyonel bağ dokusu ve primordiyal germ hücreleri olmak üzere 3 kaynaktan köken alırlar.

Gelişimin ilk safhaları 5. haftada, sölom epiteli ve embriyonel bağ dokusunun yoğunlaşmasıyla ortaya çıkar. Bu yapı genital kabartı şeklinde bilinir.

Y kromozomunun cinsiyet belirleyen bölgesinde bulunan testis belirleyici faktör (TBF) farklanmamış gonadın testis olarak gelişiminde rol oynamaktadır. TBF, gonadal kordonları uyarır. Farklanmamış gonadın medullanın derinlerine doğru uzanmasını sağlar. Kordonlar dallanarak birbirleriyle anastomoz yapar. Rete testis oluşumu görülür. Sonraki evrelerde tunika albuginea, seminifer kordonları yüzey epitelinden ayırır (Hassan ve Killick, 2003; Sadler, 2005). Fetal testisin seminifer tübüllerinde çoğunlukla sertoli hücreleri oluşturulur.

Gelişim sırasında, testisin yüzey epiteli düzleşir ve dış yüzeyindeki mezoteli oluşturur. Rete testis, duktuli efferentsleri oluşturan, 15-20 adet mezonefrik tübülle devam eder. Bu duktuliler, duktus epididimisi oluşturan mezonefrik kanalla bağlanır (Moore, 2002). Testis kordonları pubertede lümenleri açılarak seminifer tübüllere dönüşür. Seminifer tübüller kanalize olduktan sonra rete testis tübülleriyle birleşir ve duktuli efferentslere girer. (Sadler, 2005)

Seminifer tübüller, interstisyel hücreleri oluşturan mezenşimle ayrılır. Leydig hücreleri 8.haftadan itibaren, androjenik hormonları salgılar. Testisler genital kanal ve dış genital organları etkilemeye başlarlar (Moore, 2002; Sadler, 2005)

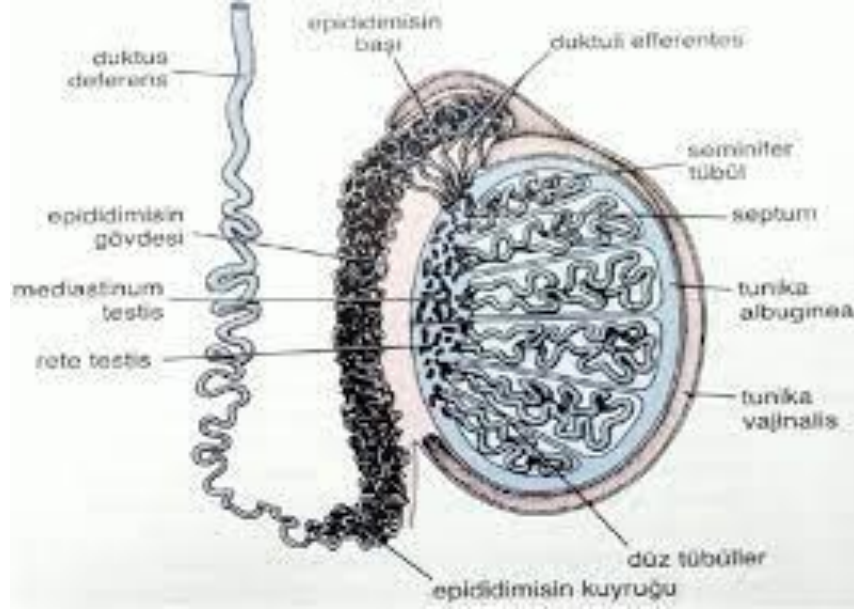
2.2.3. Testis Histolojisi

Testisler, scrotumla testis arasında yer alan 3 tabakalı kapsül bir yapı ile sarılıdır. Bu tabakalar dıştan içe doğru tunika vaginalis, tunika albuginea ve tunika vaskülozadır. Fibromüsküler bağ dokusu yapısında olan tunika albuginea, testisin posteriyor yüzeyi boyunca kalınlaşır ve içeriye doğru mediastinum testis olarak uzanır.

Kan ve lenf damarları, genital boşaltım kanalları testise giriş ve çıkışta mediastinumun içinden geçer. Her bir testisi, kapsülden uzanan bağ dokusu yapısındaki septumlarla yaklaşık 250-300 adet piramidal şekilli lobüllere bölerler (Junqueira, 2006; Ross ve Pawlina, 2006).

Lobüllerin her biri 1-4 arası sayıda seminifer tübül içerir. Lobüller içerisinde yer alan kıvrımlı tübüllerin son kısımları mediastinum bölgesinde kısalıp düzleşerek tubuli rekti adı verilen düz

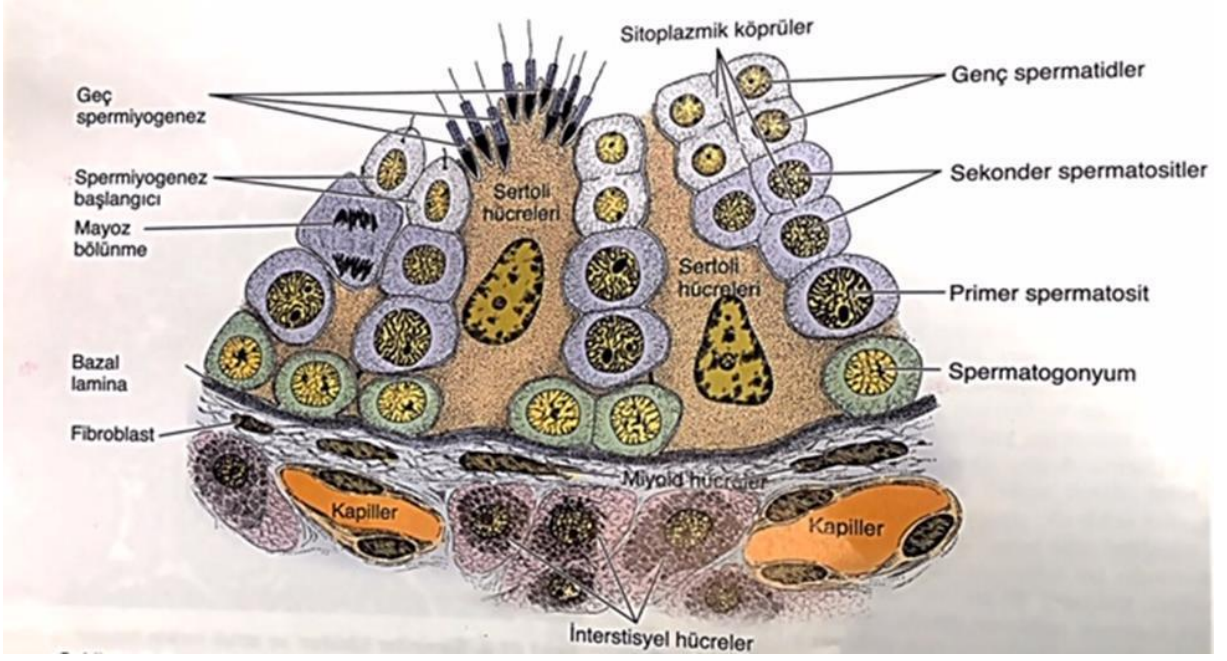
tübülü oluşturur. Bu düz tübüller mediastinum içine girince anastomozlaşarak rete testisi meydana getirir. Rete testis kanalları da 10-20 adet duktülü eferents ile epididimisin baş kısmını oluşturur.



Şekil 1. Testisin şematik gösterimi (Ross ve Pawlina, 2006).

Seminifer tübül; bağ dokusu, seminifer epitel ve bir bazal membran tarafından çevrilidir (Şekil 1). İçteki katman, düz kas özelliği gösteren myoid hücreleri içerir (Hassan ve Killick, 2003). Seminifer tübül duvarı çok katlı bir epitel ile döşelidir. Bu epiteli oluşturan hücreler, bölünme özelliği olmayan Sertoli hücreleri ile spermatogenik hücrelerdir.

Spermatogenik hücreler 4-8 tabaka halinde düzenlenmişlerdir. Düzenli olarak çoğalır ve olgun sperme farklılaşırlar. Seminifer tübüllerin aralıkları oldukça gevşek bağ dokusuyla doludur (Şekil 2). Bu bağ dokuda bol miktarda kan damarları, lenf damarları, sinirler ve testosteronu salgılayan Leydig hücreleri bulunur (Ross ve Pawlina, 2006).



Şekil 2. Testis seminifer tübül ve interstisyel bağ dokusu yapısı (Junqueira, 2006).

2.2.3.1. Spermatogenez

Spermatogenez, spermatozoo üretim sürecidir. Spermatogenez süreci, bazal laminanın hemen üstünde yer alan spermatogonyum ile başlar (Junqueira, 2006). Puberteyle birlikte spermatogonyum hücreleri mitoz bölünmeyle çoğalmaya başlar ve yeni hücreler oluştururlar. Yeni oluşan hücreler A tipi spermatogonyumlar olarak da adlandırılan kök hücreler olarak bölünmeyi sürdürebilir ya da devam eden mitotik sikluslar boyunca farklılaşarak B tipi spermatogonyumları oluştururlar. B tipi spermatogonyumlar primer spermatozoidlere farklılaşırlar. Primer spermatozoidler 46 kromozom (44+XY) ve 4N DNA içerir. Oluştuktan sonra bu hücreler birinci mayoz bölünmenin profaz aşamasına girer (Junqueira, 2006). Birinci mayoz bölünmeden sonra yalnızca 23 kromozom (22+X veya 22+Y) içeren daha küçük hücreler olan sekonder spermatozoidler oluşur. Sekonder spermatozoidlerin bölünmesiyle 23 kromozom içeren spermatidler oluşur. Spermatozoidlerde birinci ve ikinci mayoz bölünmeler arasında S fazı görülmediği için, ikinci bölünmeden sonra hücrelerdeki DNA miktarı yarıya iner ve haploid (N) hücreler meydana gelir (Junqueira, 2006).

2.3 Diyabete Bağlı Testis Hasarı

2.3.1 İnsülin ve Metabolik Etkileri

İnsülin, pankreas beta hürelerinden sentezlenen, birbirine disülfid köprüleriyle bağlanmış iki aminoasit zincirinden oluşan küçük bir proteindir. Karbonhidrat metabolizması üzerinde önemli bir etkisi vardır.

Karbonhidrat metabolizmasıyla birlikte yağ ve protein metabolizmasına da etki etmektedir. Diyabetli hastalarda protein sentez yeteneğindeki azalma birçok hücrel işlev bozukluklarına yol açmaktadır. Diyabetli hastalarda mortalite nedeni olan asidoz ve aterosklerozun ortaya çıkması yağ metabolizmasındaki bozukluklara bağlıdır.

2.3.2 Diyabet ve Oksidatif Stres

Diyabet, oksidatif stresi artıran metabolik bir hastalıktır. Hiperglisemide, oksidatif stres artmakta, antioksidanlar ise azalmaktadır. Diyabetin neden olduğu komplikasyonların en önemli nedeninin oksidatif stres olduğu bilinmektedir (Vural ve diğerleri, 2001) Diyabette artan serbest radikaller lipid, protein ve nükleik asitlerle etkileşerek hücrelerde membran bütünlüğünün kaybolmasına, proteinlerde yapısal değişikliğe neden olmaktadır. Çalışmalarda serbest oksijen radikallerinin (ROS) ve lipid peroksidasyonunun kardiyolojik hastalıklar, nörolojik hastalıklar, diyabet, astım, romatolojik hastalıklar gibi birçok hastalığın patogeneğinde rol oynadığını göstermektedir (Altan ve diğerleri, 2006).

Diyabetin neden olduğu non-enzimatik glikasyon, dokulardaki oksijen miktarının azalması, metabolik stres ve iskemi-reperfüzyon sonucu oluşan doku hasarının vücuttaki antioksidan savunma sistemini azalttığı ve serbest radikal üretimini arttırdığı bilinmektedir (Jangir ve Jain, 2014). Oksidatif stresin, erkek üreme disfonksiyon ve anomalileriyle ilgili diyabetin patofizyolojisinde önemli rol oynadığı bilinmektedir (Jangir ve Jain, 2014). Bu nedenle diyabetli hastaların antioksidan sistemlerinin desteklenmesinde fayda vardır.

2.3.3 Diabetes Mellitus ve Erkek İnfertilitesi

İnfertilite günümüzde dünya çapında çiftlerin %8-12'sini etkileyen önemli klinik bir problemdir. Tüm infertilite vakalarının yaklaşık %40-50'si "erkek faktörü" infertilitesinden kaynaklanır. Erkeklerin %2 si düşük sperm konsantrasyonu, zayıf sperm motilitesi veya anormal sperm morfolojisi gibi suboptimal sperm parametreleri sergilemektedir (Kumar ve Singh, 2015).

İnfertilite, 1 yıl boyunca korunmasız ve düzenli cinsel ilişkiye rağmen gebeliğin oluşmaması durumudur (Dias ve diğerleri, 2014). Üreme işlevinin eksiksiz ve sorunsuz olarak gerçekleşebilmesi için kadının ve erkeğin hormonal, fizyolojik ve anatomik sistemlerinin birbiriyle uyumlu çalışması gerekmektedir. Erkeğin infertilitedeki etkisi; % 30 olguda tek başına, % 20 olguda kadın faktörüyle birlikte olmak üzere %50 oranındadır (Hassan ve Killick, 2003). Erkek infertilitesi çeşitli nedenlere bağlı olarak ortaya çıkmaktadır.

Litertürde, DM'nin, testiste dejeneratif ve apoptotik değişikliklere neden olarak spermatogenezde bozulmaya, bozulmuş sperm kalitesine, yüksek oranda nükleer DNA hasarlı spermatozoalara, kan testis bariyerinde değişmiş glukoz metabolizmasına, testosteron sentez ve salgısında erkek infertilitesine sebep olduğu bildirilmiştir. Bu değişimlere DM'ye bağlı oksidatif stres ve hormonal değişikliklerin neden olduğu düşünülmektedir (Alves ve diğerleri, 2013).

Sperm metabolizması ve DM, oksidatif stres ile yakından ilişkilidir. Diyabetik hastalarda genellikle yüksek seviyede oksidatif stres ve dolayısıyla aşırı ROS üretimi ve antioksidan savunma düzeylerinde azalma bildirilmiştir. Bu koşullar erkeklerin üreme potansiyeli için oldukça tehlikelidir çünkü diyabetik bireylerin fertilizasyon kapasitesi, hipergliseminin neden olduğu yüksek oksidatif stres seviyelerinden kaynaklanan spermde artan DNA hasarı yüzünden tehlike altındadır.

Glukoz homeostazı, in-vivo spermatogenezin ve spermlerin fertilite kapasitesinin korunması için çok önemlidir (Dias ve diğerleri, 2014). Testiküler fonksiyonda DM tarafından uyarılan bu komplikasyonlar, glukoz homeostazından sorumlu hormon olan insülinin eksikliğiyle ilişkilendirilmiştir. Beyindeki insülin sinyali üreme fonksiyonunun düzenlenmesinde önemli bir rol oynamaktadır (Bruning ve diğerleri, 2000).

Yapılan son çalışmalar, tip 1 ve tip 2 diyabete sahip genç hasta sayısında devam eden bir artış olduğunu göstermektedir. Bu artışın aktif üreme çağındaki birçok diyabetli erkeği etkilemekte, yakın gelecekte DM' ye bağlı fertilitte problemlerinin artacağının göstermektedir.

2.4. Aralıklı Açlık

Açlık; enerji içeren yiyecek veya içeceklerin tüketilmediği haftada 1-2 gün (tam kısıtlama), enerji ihtiyacının ciddi kısıtlanmasıyla haftada ardışık olmayan 2 gün (popüler 5:2 diyeti, kısmi kısıtlama) veya zaman kısıtlamalı beslenme (16/8, 18/6) gibi birçok farklı şekilde uygulanabilmektedir. (Patterson ve diğerleri, 2015).

Aralıklı açlık uygulaması metabolik hastalık riskini azaltmanın etkili bir yoludur. Kardiyovasküler hastalık, böbrek hastalıkları, kanser ve diyabet dahil olmak üzere birçok morbiditenin gelişimini geciktirdiği veya tamamen önlediği görülmektedir (Varady ve diğerleri, 2009).

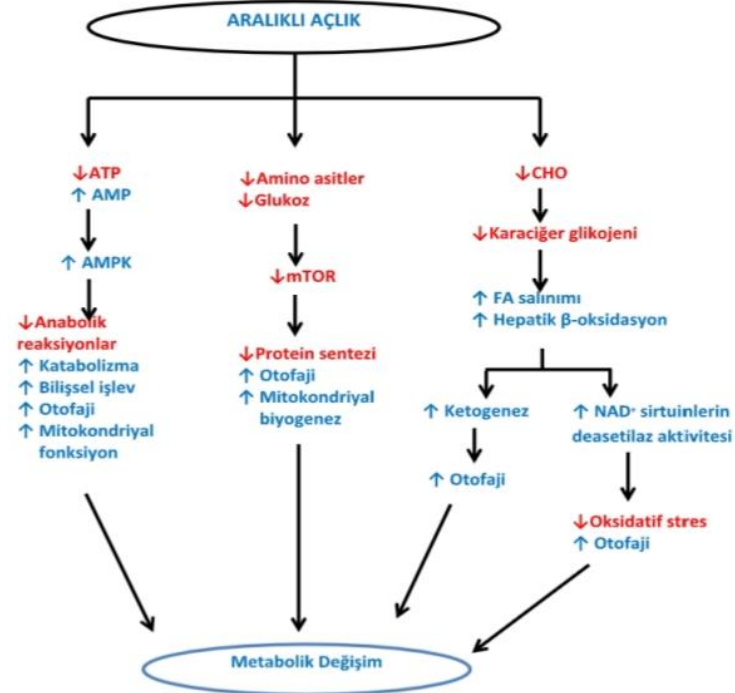
Hayvan çalışmalarından elde edilen sonuçlar, aralıklı açlığın; vücut ağırlığı, toplam kolesterol ve trigliserit, glukoz, insülin, interlökin 6 ve tümör nekroz faktörü- α konsantrasyonlarındaki azalmayla birlikte insülin duyarlılığındaki gelişmelerle de ilişkili olduğunu göstermektedir (Rothschild ve diğerleri, 2014).

Aralıklı açlık daha düşük açlık glikozu ve insülin konsantrasyonları ve gelişmiş glikoz toleransı ile insülin duyarlılığını sağlar (Trepanowski ve diğerleri, 2011). Bu noktada diyabetin tedavisinde ya da diyabetin neden olduğu komplikasyonların hafifletilmesinde aralıklı açlığın kullanımının olası pozitif sonuçları düşünülebilir.

Aralıklı açlık, hayvanlarda ve insanlarda artan yaşam süresi ile ilişkilendirilmektedir. Açlık sırasında mitokondriyal biyogenez ve otofaji artar ve oksidatif stres azalır (Rajpal ve Ismail-Beigi, 2020).

Açlık uygulamalarında besin kısıtlamasından farklı olarak ketogenez (yağ asidi oksidasyonu) gelişmektedir (Longo ve Mattson, 2014). Kısa süreli açlık çalışmalarında lipid ve glikoz metabolizması arasındaki ilişki incelenmiştir. Yakıt kaynağı olarak yağ asitlerinin etkinliğinin arttığı görülmüştür. Açlığın ilk 24 saati içinde kan glukozu düzeylerinin düştüğü, lipolizis ve yağ oksidasyonunun önemli ölçüde arttığı gösterilmiştir (Soeters ve diğerleri,

2012). Aralıklı açlık serum leptin düzeyini azaltıp, grelini artırmaktadır (Catenacci ve diğerleri, 2016).



Şekil 3. Aralıklı açlığın mekanizmalarından bazıları (BANU Sağlık Bilimleri ve Araştırmaları Dergisi, 2021).

Aralıklı açlığın mekanizmalardan bazıları Şekil 3’te özetlenmiştir.

Aralıklı açlık beslenme yaklaşımının çeşitli dokular üzerinde olumlu etkileri olduğu görülmektedir. Bunlar homeostazda gelişmeler, doku onarımı ve mitokondriyal biyogenezle ilişkilendirilmektedir (Di Francesco ve diğerleri, 2018). İnsan ve hayvan çalışmalarında aralıklı açlığın kan keton düzeylerinde, özellikle β -hidroksibütirat seviyelerinde artışa yol açtığı saptanmıştır (Anton ve diğerleri, 2018). Açlık periyodunda, beyin tarafından sürekli olarak kullanılan glukozun yerini; yağ asitlerinin β -oksidasyonu sonucu karaciğerden salınan β -hidroksibütirat almaktadır (Cahill ve Veech, 2003).

Aralıklı açlık beslenme yaklaşımının diyabetik hastalarda vücut ağırlığı, kan glukozu, insülin duyarlılığı, β hücre yanıtı, oksidatif stres gibi parametreleri iyileştirdiği bildirilmiştir (Sutton ve diğerleri, 2018).

Çalışmamızda aralıklı açlığın yol açtığı mekanizmaların (oksidatif stres parametrelerinin iyileşmesi, otofajinin uyarılması vb) diyabetik testis hasarında olası iyileştirici etkilerini araştırdık.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Cihazlar

Çalışma kapsamında Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalında bulunan mikrotom cihazı, doku takip cihazı, buzdolabı/derin dondurucu, etüv kullanıldı.

3.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Dokuların fikse edilmesi ve takibinde bouin solüsyonu, formaldehit, alkol serileri, ksilol kullanıldı. Tip 2 diyabeti indüklemek için streptozotosin kullanıldı.

3.1.3. Hayvan Materyali

Aralıklı açlığın streptozotosin ile indüklenmiş diyabetik farelerdeki testis hasarı üzerine etkisini araştırmak amacıyla, 40 ± 2 gram ağırlığında 8-10 haftalık 32 adet Balb-c cinsi erkek fare (Resim 1) kullanıldı. Adnan Menderes Üniversitesi Etik kurulunca onaylanan (64583101/2021/057) çalışmamızda fareler Adnan Menderes Üniversitesi Deney Hayvanları Laboratuvarından temin edildi. Deney süresince fareler 12:12 aydınlık/ karanlık ışıklandırması olan, ısı (21 ± 1 °C) ve nemi (%45-65) otomatik olarak ayarlanmış odalarda tutuldu. Fareler polikarbon şeffaf kafeslerde standart fare yemi ile beslenerek çeşme suyu verildi.



Resim 1. Araştırma kapsamında kullanılan *Balb-c* fareler ve deneysel gruplar.

3.2. Yöntem

3.2.1. Deneysel Çalışma

Çalışmamızda kullanılan 32 adet fare rastgele olarak 4 gruba ayrılmıştır. Deney grupları aşağıdaki gibidir;

1.Grup Normal Kontrol (8 fare); Bu gruptaki farelere herhangi bir uygulama yapılmamıştır.

2.Grup Sham Grubu (8 fare); Bu grubu oluşturan farelere, 4 hafta yüksek yağlı diyet sonrası sitrat tamponu i.p. uygulanmıştır.

3.Grup: Diyabetik Kontrol (8 fare); Bu grubu oluşturan her bir fareye 4 hafta yüksek yağlı diyet sonrası tek doz 180 mg/kg STZ i.p. uygulanmıştır.

4.Grup: Aralıklı Açlık Uygulanan Diyabetik Fareler (8 fare); 4 hafta yüksek yağlı diyet sonrası 180mg/kg STZ'nin i.p. uygulanması ile diyabet gelişimi teyit edildikten sonra 4 hafta boyunca günlük 16 saat açlık, 8 saat beslenme periyodu uygulanmıştır. 8 saat beslenme periyodu ad libitum olarak sağlanmış ve besin tüketimleri ölçülmüştür. Suya erişimi 24 saat serbest bırakılmıştır.

3.2.2. Deneysel Diyabetin Oluşturulması

Tip 2 diyabetin indüklenbilmesi için deneysel diyabet modeli 2 basamakta oluşturulmuştur. Birinci basamak yüksek yağlı diyet ve ikinci basamak STZ enjeksiyonudur.

3.2.2.1. Kurum İçi Hazırlanmış Yüksek Yağlı Diyet (%40 Yağlı)

Standart fare yemi özellikleri tablo 1. de gösterilmiştir. Çapları 12-16 mm olan palet yem değirmende öğütölüp tamamen toz haline getirilmiştir.

MAMUL BİLEŐENLER	
m Pa	23,00
u Kul	9,00
un Sel	7,00
un Yağ	3,00

BİLEŐENLER LİSTESİ

İsır. Tam öğütölünmüş sapsiz(Ge de edilm oluay Ra okar Yağ avuk İsteyim Pa renir.

KULLANIM
OLAN (RATLARIN

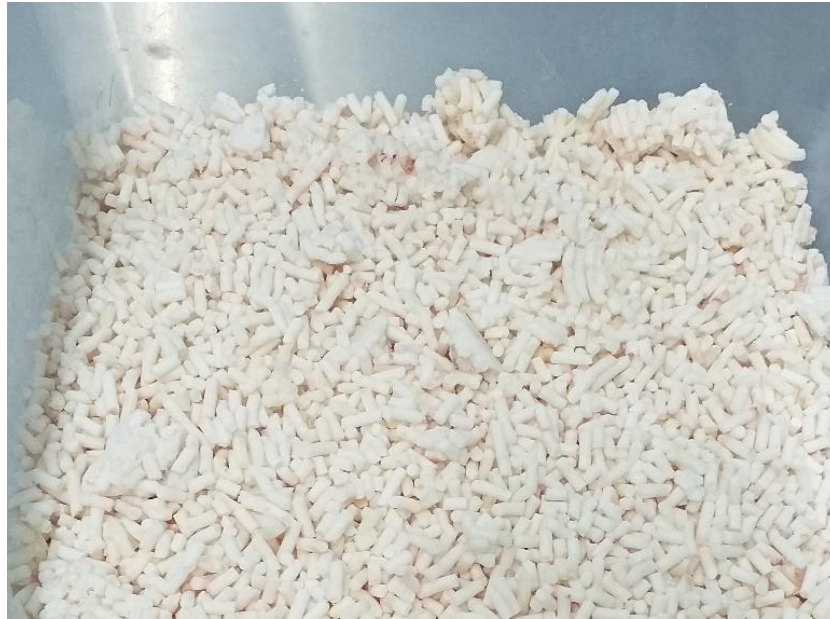
DEPOLAMA
NEMSİZ SERİN VE DEPOLARDA MUHAFAZ
ÜST ÜST ÇUVALDA VE ÇUVAL LARI SİRKÜLASYONUNDU ROŐLUK BIRAKILARAK ANMASI CERER

Resim 2. Standart fare yeminin bileşenleri

Tablo 1. Bil-Yem Laboratuvar Hayvan Yemi Özellikleri

YEM ÖZELLİKLERİ	FARE	RAT	TAVŞAN	KOBAY
TEMEL BESİN MADDELERİ				
Kuru Madde (% En az)	88	88	88	88
Ham Protein (% En az)	24	23	17	14
Ham Selüloz (% En çok)	7	7	15	11
Ham Kül (% En çok)	8	8	15	10
HCL Çözülme-yen Kül(% En çok)	2	2	2	2
Su (% En çok)	12	12	12	12
NaCl (% En az)	1	1	1	1
Metabolik Enerji (% En az kcal/kg)	2650	2600	2400	2600
Lizin (% En az)	1	1	0,7	5
Sistin (% En az)	-		0,6	-
Methionin (% En az)	0,6		0,5	0,5
MAKRO ELEMENTLER				
Ca (En az)	1,0	1,0	1,2	1,3
P (En az)	0,9	0,9	0,8	1,0
Na (En az)	0,50	0,50	0,40	0,50
MİKRO ELEMENTLER				
Mangan (% En az)	10	10	8,5	10
Zn (% En az)	4	4	70	4
AMBALAJ (En az kg)	25	25	25	25

Toz haline getirilen standart fare yemine (Resim 2) %40 oranında hayvansal yağ (Resim 3) eklendi. Su ilave edilerek şekil verildi. Kalorisi ve yağ oranı artırılmış yüksek yağlı diyet hazırlandı (Resim 4, Resim 5, Resim 6).



Resim 3. Hayvansal yağ



Resim 4. Toz haline getirilmiş standart yem, hayvansal yağ ve su ile karıştırılan kurum içi hazırlanmış yüksek yağlı diyet



Resim 5. Yüksek yağlı diyet (%40) pelletleri



Resim 6. Kafese koyulan pelletlerin görüntüsü

3.2.2.2. STZ Enjeksiyonu

4 hafta yüksek yağlı beslenen farelerin vücut ağırlığına göre tek doz STZ'nin pH'sı 4,5 olan 0,1M sodyum sitrat tamponunda çözülerek (Resim 7) i.p. verilerek gerçekleştirilmiştir (Resim 8). (Teng ve diğerleri, 2011). Sitrat tamponu; 0,960615 g sitrik asit ($C_6H_8O_7 \cdot H_2O$) ve 1,4705 g sodyum sitrat dihidrat ($C_6H_5O_7Na_3 \cdot 2H_2O$), 1 litre % 0,09'luk serum fizyolojik içinde çözünerek hazırlanmıştır.



Resim 7. Işığa hassasiyeti nedeniyle karanlık ortamda hazırlanan STZ

STZ uygulamasından önce fareler 12 saat aç bırakılmıştır. Uygulamadan sonra, farelere 24 saat boyunca şekerli su (%10 glukoz solüsyonu) verilmiştir. (Kurçer ve Karaoğlu, 2012)



Resim 8. Farelere STZ Enjeksiyonu

STZ uygulamasından 72 saat sonra kuyruk veninden glikometre ile kan glukoz düzeyleri ölçüldü (Resim 9). Kan glukoz düzeyleri 250 mg/dL ve üstünde çıkan farelerde tip 2 diyabet gelişimi teyit edildi (Kushwaha ve Jena, 2012).



Resim 9. Farelerin Kuyruk Veninden Glikometre ile Kan Glukoz Ölçümü

3.2.3 Aralıklı Açlık Beslenme Modelinin Uygulanması (16/8)

İnsan çalışmalarına benzerliği, uygulanabilirliği ve sürdürülebilirliği göz önüne alınarak günde 16 saat açlık 8 saat yeme penceresini içeren bir aralıklı açlık modeli uygulandı. Farelerin yemleri hergün 17.00'de kafeslerinden alındı (Resim 10). 16 saat boyunca aç bırakıldılar. Bu süreçte suya erişimleri serbest bırakıldı. Takip eden gün 09.00' da miktarı ölçülmüş ve kaydedilmiş olan standart fare yemi kafeslere koyularak beslenme penceresi başlatıldı. Suya erişim 24 saat serbest bırakıldı.



Resim 10. Açlık Periyodundaki Fareler

3.2.4. Besin Tüketim Kaydı

8 saatin sonunda tüketilen günlük yem miktarı her grup için ayrı ayrı ölçüldü ve kaydedildi.

3.2.5. Vücut Ağırlıklarının Ölçümü

Başlangıçta ve deney süresince farelerin haftalık vücut ağırlıkları tartıldı ve kaydedildi.

3.2.6. Kan Glukoz Ölçümü

STZ uygulandıktan 72 saat sonra ve fareleri sakrifiye edilmeden önce kan glukoz düzeyleri, kan şekeri ölçüm cihazı (glikometre) aracılığıyla kuyruk veninden alınan kan damlası ile ölçüldü.

3.2.7. Deneyin Sonlandırılması ve Dokuların Alınması

Deney sonunda genel anestezi altında sakrifiye edilen farelerin testisleri alındı. Histopatolojik değerlendirmeler için testisler bouin solüsyonunda 26 saat süreyle fikse edildi. Rutin takip yöntemleri kullanılarak tabloda belirtilen şekilde takip edildi (Tablo 2). Parafin içerisine gömüldü.

Tablo 2. Doku Takip Yöntemi

Kimyasal	Uygulama Süresi
Bouin Tespiti	26 saat
%70'lik Alkol	1 hafta
% 80'lik Alkol	1 saat
% 90'lik Alkol	1 saat
% 96 - I'lik Alkol	1 saat
% 96 - II'lik Alkol	1 saat
% 100'lik Alkol	10 dakika
Ksilol I	20 dakika
Ksilol II	20 dakika

Parafin I	30 dakika
Parafin II	1 saat
Parafin III	1 saat
Bloklama	

3.2.8. Testis Ağırlıklarının Ölçümü

Farelerin testisleri hassas terazi ile tartıldı. Her fare için ortalama testis ağırlığı hesaplandı.

3.2.9. Kan Parametrelerinin Analizi (HbA1c, Testosteron)

Farelerin kalbinden EDTA'lı hemogram tüplerine alınan kan örneklerinden HbA1c, biyokimya tüplerine alınan kan örneklerinin serumundan testosteron tayinleri aynı gün içinde yapıldı.

3.2.10. Sperm Sayımı

Sperm, sol vaz deferens ve epidimisin 1 mL'lik steril PBS'e sıvazlanması sonrası toplandı. (Razavi ve diğerleri, 2014). PBS içerisine alınan epididimisin kauda kısımları insülin enjektör uçları ile parçalara ayrıldı ve sol vaz deferensler sıvazlandı (Resim 12). Bu işlem sonrası kanallar içerisindeki sperm hücreleri medyum içerisine dağıldı.



Resim 11. Sperm eldesi amacıyla sıvazlanan vaz deferens

Makler sayım diskinde WHO kriterleri gözetilerek motilite değerlendirilmesi yapıldı. Spermiumları içeren medyum konik dipli steril santrifüj tüplerine aktarıldı ve 9000 G'de 5 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonrası süpernatant atıldı. Spermiumları içeren çözültiden mikropipet yardımıyla 10 µl alınarak lama yayıldı. Spermium örnekleri, Makler kamarasında mikroskop altında incelenerek sperm sayımı yapıldı ve bulunan sayı 10^6 ile çarpıldı. Ayrıca spermium örnekleri motilite açısından morfolojik olarak değerlendirildi. Daha sonra elde edilem sperm örnekleri eppendorflara konuldu ve fiksasyon için 100 µl paraformaldehit (% 4 lük eklendi) ve 10 dk bekletildi. Fiksasyon süresi tamamlanınca pelletlerden yayma preparat hazırlandı ve havada kurutuldu. Daha sonra hematoksilen eozin ile boyama yapıldı (Kruger et al., 1987).

3.2.11 Kesitlerin Alınması ve Hematoksilen-Eozin Boyaması

Testis dokularından mikrotomla (RM2235, Leica, Gemany) 5 µm'lik kesitler alındı. Deparafinizasyon işlemi için bir gece etüvde bekletildikten sonra ksilol uygulanarak parafini uzaklaştırıldı. Dokular azalan alkol serilerinden geçirilerek distile su ile yıkandı. Sırasıyla "Harris hematoksilen" ve "eozin G" boyalarıyla boyanan dokular artan alkol serilerinden geçirildi. Ksilole batırılan dokular entellan damlatılarak kapatıldı. H-E boyama aşamaları aşağıdaki çizelgede verildi (Tablo 3). Hematoksilen-eozin ile boyanan doku örnekleri ışık mikroskobunda incelendi ve fotoğraflandı.

Tablo 3. H-E boyama yöntemi

H-E BOYAMA YÖNTEMİ	
Ksilol-I	4 dakika
Ksilol-II	4 dakika
%96' lık Alkol	1 dakika
%90' lık Alkol	1 dakika
%80' lık Alkol	1 dakika
%70' lık Alkol	1 dakika
Distile su	2 dakika
HEMATOKSİLEN	4 dakika
Çeşme Suyu	4 dakika
Eosin	5 dakika
%70' lık Alkol	1 dakika
%80' lık Alkol	1 dakika
%90' lık Alkol	1 dakika
%96' lık Alkol	1 dakika
Ksilol-I	4 dakika
Ksilol-II	4 dakika

3.2.12. İstatistiksel Analiz

Çalışmada incelenen sürekli değişkenlerin normal dağılıma uygun olup olmadıkları Shapiro-Wilk testi ile değerlendirildi. Normal dağılım gösteren sürekli değişkenler aritmetik ortalama± standart sapma; normal dağılım göstermeyen sürekli değişkenler ise ortanca (minimum-maksimum) şeklinde ifade edildi. Normal dağılım gösteren sürekli değişkenlerin karşılaştırılması için One-way ANOVA testi ve uygun post-hoc analizleri; normal dağılım göstermeyen sürekli değişkenlerin karşılaştırılması için ise Kruskal Wallis H testi ve uygun post-hoc analizleri kullanıldı. İstatistiksel analizler SPSS 21.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) programı kullanılarak yapıldı. Tüm değerlendirmeler için $p < 0.05$ değeri anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1 Farelerin Vücut ve Testis Ağırlıklarının Ölçümü ve Karşılaştırılması

Kontrol ve deney gruplarındaki farelerin vücut ağırlıkları deneye başlamadan önce, deney süresince her hafta ve deney sonunda ölçülmüştür. Farelerin deney öncesi ölçülen ilk vücut ağırlıkları ve sakrifikasyon öncesi ölçülen son vücut ağırlıkları Tablo 4'te gösterilmiştir. Kontrol, sham, DM ve DM+AA gruplarının ilk vücut ağırlıkları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p=0.470$) (Şekil 4). Ölçülen son vücut ağırlıkları açısından ise gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur ($p<0.001$). DM ve DM+AA gruplarındaki farelerin son vücut ağırlıkları kontrol grubundaki farelere göre anlamlı şekilde düşük olarak ölçülmüştür (Şekil 5).

Çalışmaya dâhil edilen fareler sakrifiye edildikten sonra testis ağırlıkları ölçülmüş ve her fare için ortalama testis ağırlığı hesaplanarak bu değerler Tablo 4'te verilmiştir. Gruplar arasında testis ağırlıkları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmuştur ($p<0.001$). Buna göre, DM ve DM+AA gruplarındaki farelerde testis ağırlıkları kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha düşük saptanmıştır. Bununla birlikte, DM+AA grubundaki farelerin testis ağırlıkları ise DM grubuna kıyasla anlamlı biçimde daha yüksek bulunmuştur (Şekil 6).

Tablo 4. Farelerin vücut ve testis ağırlıklarının karşılaştırılması.

Parametre	Kontrol Grubu (n=8)	Sham Grubu (n=8)	DM Grubu (n=8)	DM+AA Grubu (n=8)	P Değeri
İlk VA (gr)	40.00 (36.00-43.00)	38.00 (34.00-44.00)	41.00 (36.00-44.00)	40.00 (35.00-44.00)	0.470
Son VA (gr)	47.00 (42.00-51.00)	46.00 (41.00-51.00)	35.50 (32.00-40.00) ^a	36.50 (33.00-42.00) ^a	<0.001 *
VA Değişimi (%)	18.83 (12.82-21.62)	20.29 (15.00-25.71)	-10.23 [(-4.88)-(-14.58)]	-5.42 [(-2.78)-(-8.06)] ^a	<0.001 *

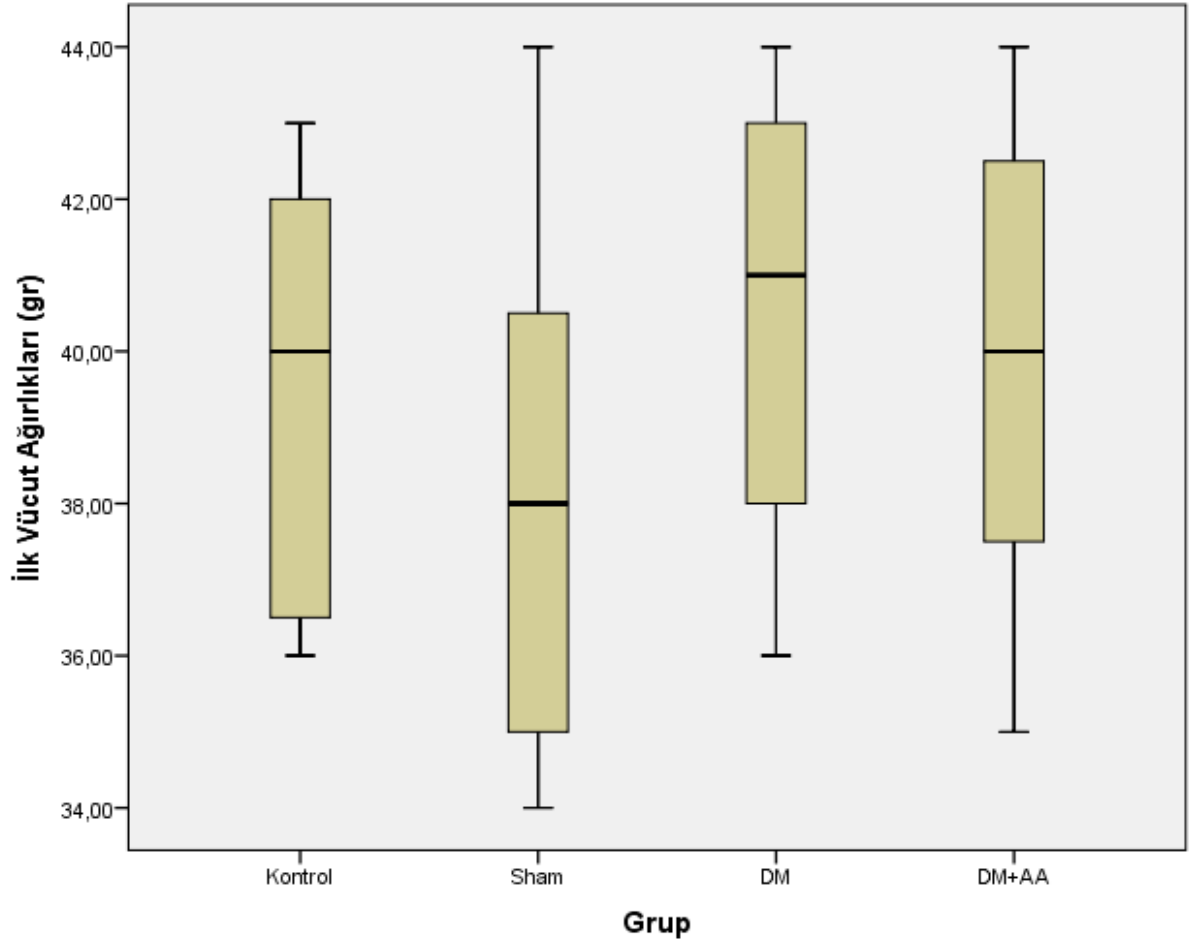
			16.67)] ^a		
TA (gr)	0.20 (0.18-0.23)	0.20 (0.18-0.22)	0.10 (0.08-0.12) ^a	0.12 (0.11-0.16) ^{a,b}	<0.001 *
Rölatif TA (%)	0.42 (0.37-0.51)	0.44 (0.35-0.54)	0.27 (0.23-0.31) ^a	0.33 (0.30-0.39) ^b	<0.001 *

TA, testis ağırlığı; VA, vücut ağırlığı.

* $p < 0.05$, istatistiksel anlamlılığı belirtir.

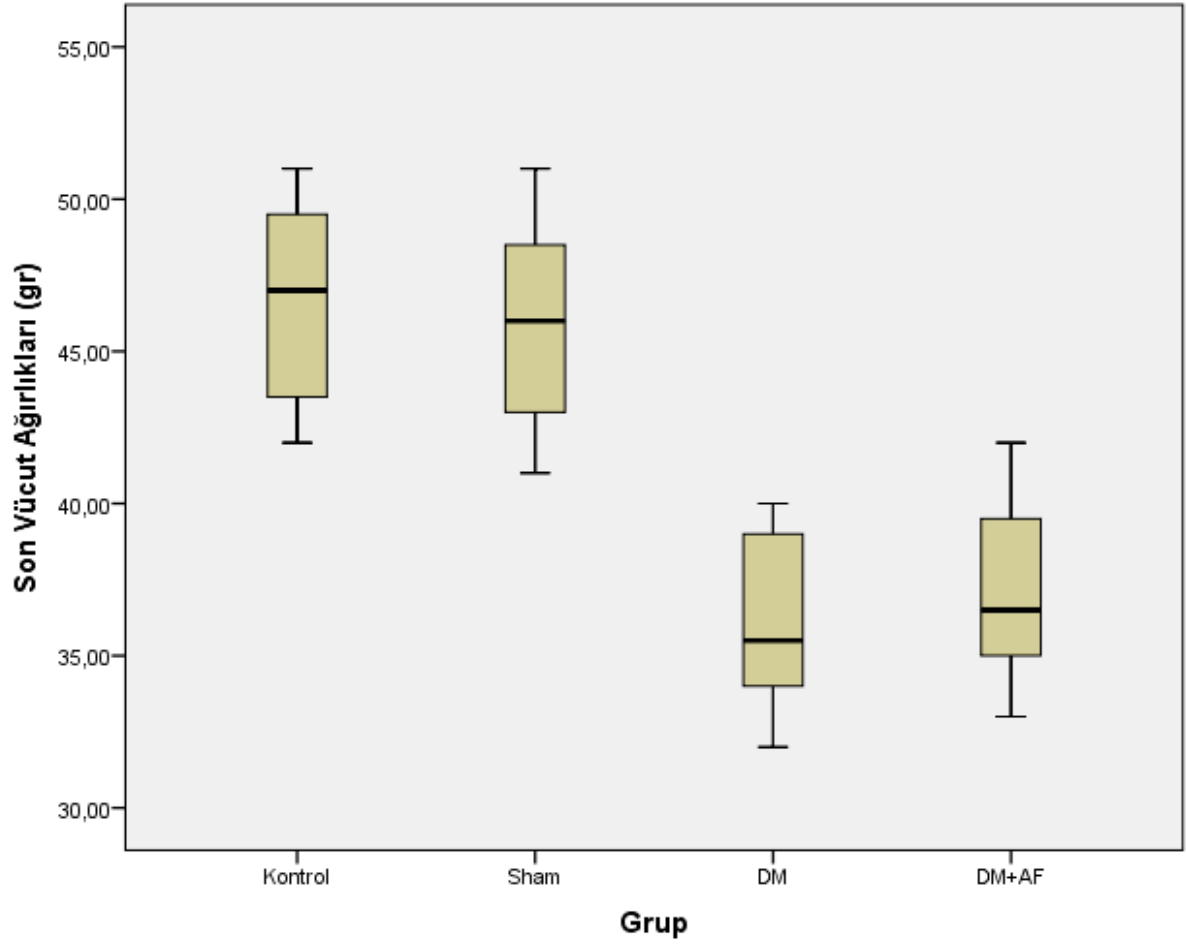
^a $p < 0.05$ vs. kontrol grubu, ^b $p < 0.05$ vs. DM grubu

Farelerin testis ağırlıkları ve son vücut ağırlıkları kullanılarak hesaplanan rölatif testis ağırlıkları açısından da gruplar arasında anlamlı farklılık olduğu bulunmuştur ($p < 0.001$). Rölatif testis ağırlığının DM kontrol grubunda ve DM+AA gruplarına kıyasla anlamlı şekilde daha düşük olduğu görülmüştür. DM+AA grubunda rölatif testis ağırlığı kontrol grubuna göre daha düşük olmasına karşın, bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı saptanmıştır (Şekil 7).



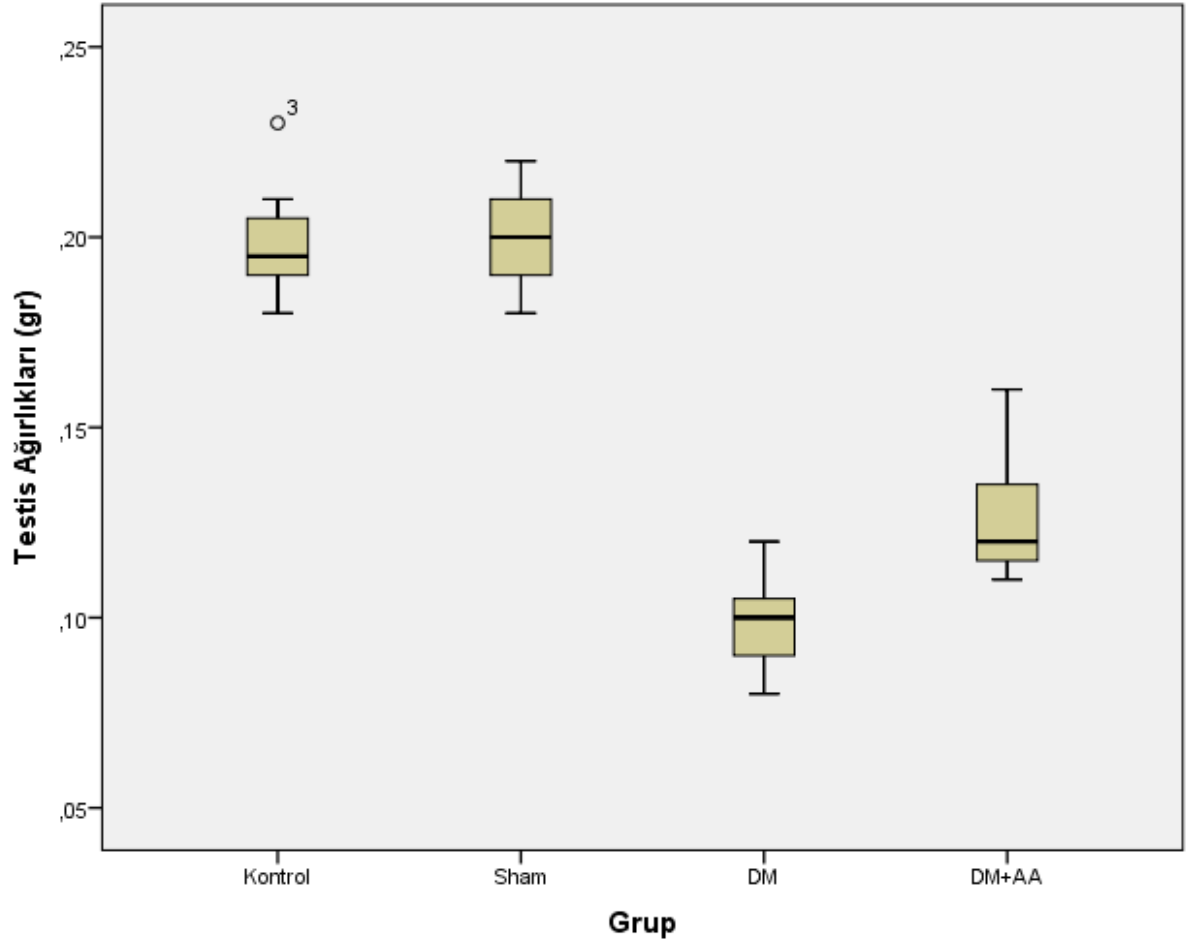
Şekil 4. Farelerin ilk vücut ağırlıklarının dağılımını gösteren grafik.

Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p=0.470$).



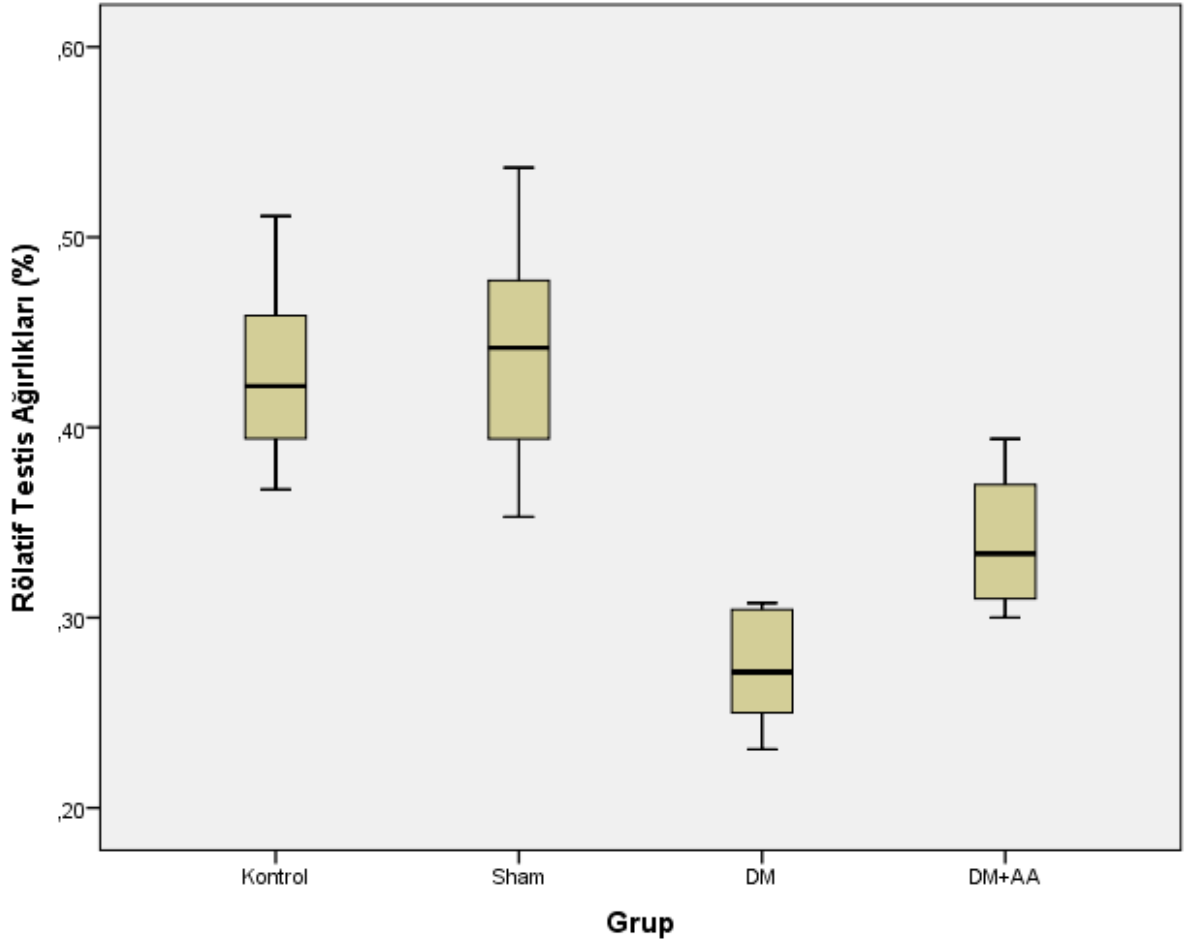
Şekil 5. Farelerin son vücut ağırlıklarının dağılımını gösteren grafik.

Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır ($p < 0.001$).



Şekil 6. Farelerin testis ağırlıklarının dağılımını gösteren grafik.

Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır ($p < 0.001$).



Şekil 7. Farelerin rölatif testis ağırlıklarının dağılımını gösteren grafik.

Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır ($p < 0.001$).

4.2 Farelerin Kan Glukozu, HbA1c Düzeyleri ve Besin Tüketim Miktarlarının Ölçümü ve Karşılaştırılması

Çalışma gruplarındaki farelerin kan glukoz düzeyleri Tablo 5’te gösterilmiştir. Farelerin kan glukoz düzeyleri DM ve DM+AA gruplarında kontrol grubuna göre anlamlı şekilde daha yüksek olarak ölçülmüştür ($p < 0.001$) (Şekil 8). DM+AA grubunda kan glukoz düzeylerinin DM grubuna göre bir miktar daha düşük olduğu görülmüştür; ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

HbA1c düzeylerinin gruplar arasında anlamlı farklılık gösterdiği saptanmıştır (p=0,001). DM ve DM+AA gruplarında HbA1c düzeyi kontrol grubuna göre anlamlı şekilde yüksek olarak bulunmuştur. DM ve DM+AA grupları karşılaştırıldığında ise, DM+AA grubunun HbA1c düzeyinin DM grubuna kıyasla daha düşük olduğu görülmüştür (Şekil 9).

Farelerin haftalık ortalama besin tüketim miktarları da Tablo 5'te verilmiştir. Farelerin bazal (Şekil 10) ve 1. hafta besin tüketim miktarları gruplar arasında benzer olarak ölçülmüştür (sırasıyla p=0.666 ve p=0.050). Buna karşın, 2. ve 3. haftalardaki besin tüketim miktarının DM grubunda (sırasıyla p=0.001 ve p<0.001); 4. haftadaki besin tüketim miktarının ise hem DM hem de DM+AA gruplarında kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha düşük olduğu görülmüştür (p<0.001) (Şekil 11).

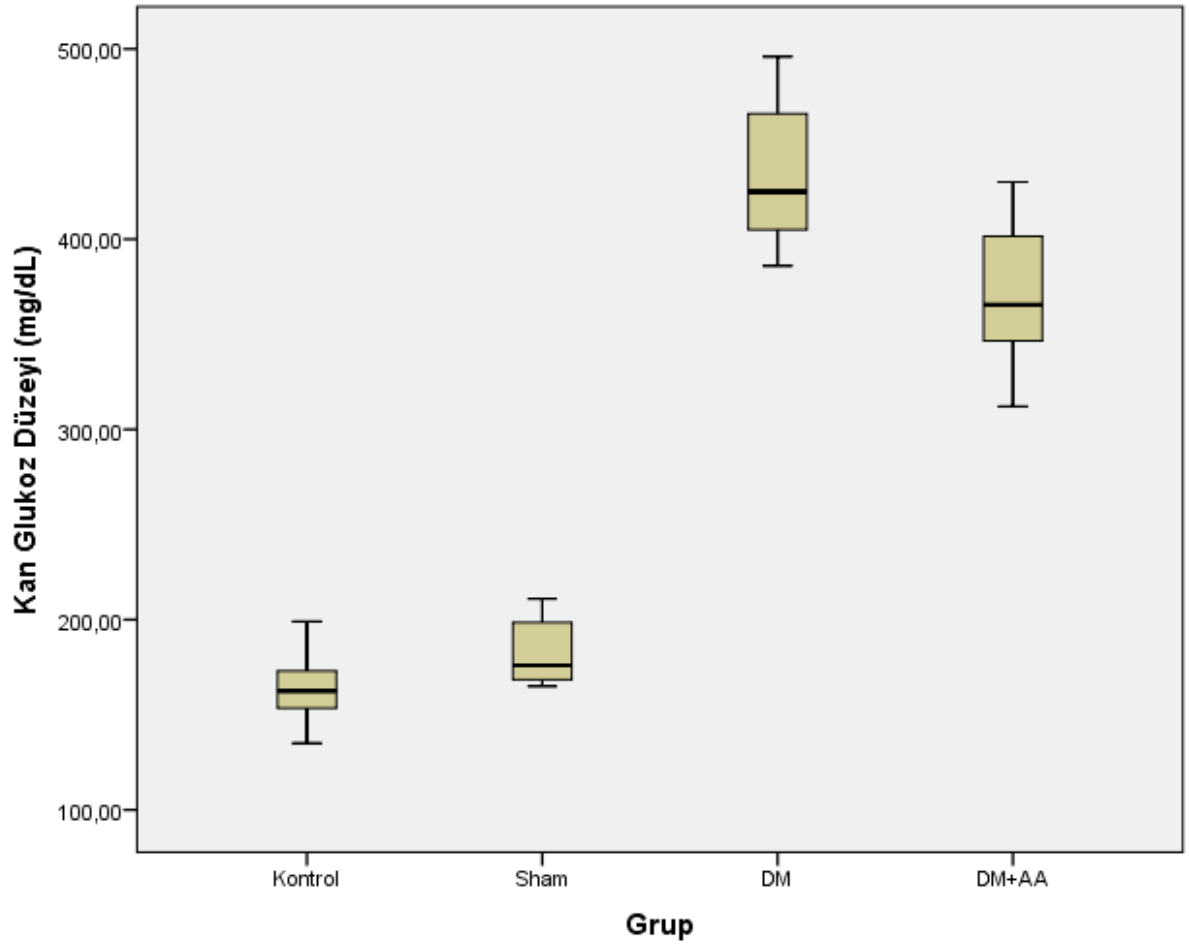
Tablo 5. Farelerin kan glukoz ve HbA1c düzeyleri ile haftalık ortalama besin tüketim miktarlarının karşılaştırılması.

Parametre	Kontrol Grubu (n=8)	Sham Grubu (n=8)	DM Grubu (n=8)	DM+AA Grubu (n=8)	P Değeri
Kan glukoz düzeyi (mg/dL)	162.50 (135.00- 199.00)	176.00 (165.00- 211.00)	425.00 (386.00- 496.00) ^a	365.50 (312.00- 430.00) ^a	<0.001*
HbA1c Düzeyi (%)	5.95 (5.60- 6.10)	6.05 (5.80- 6.30)	8.55 (7.90- 8.90) ^a	7.25 (6.80- 8.00) ^{a,b}	0.001*
Besin tüketimi (0. Hafta) (gr/hafta)	10.00 (9.00- 12.00)	9.50 (8.00- 11.00)	10.00 (9.00- 12.00)	10.00 (9.00- 13.00)	0.666
Besin tüketimi (1. Hafta) (gr/hafta)	10.50 (9.00- 12.00)	10.00 (8.00- 12.00)	9.00 (8.00- 11.00)	10.00 (9.00- 12.00)	0.050
Besin tüketimi (2. Hafta)	11.00 (10.00- 13.00)	11.00 (10.00- 14.00)	9.00 (7.00- 10.00) ^a	9.00 (8.00- 11.00)	0.001*

(gr/hafta)					
Besin tüketimi (3. Hafta) (gr/hafta)	11.00 (10.00-14.00)	12.00 (11.00-15.00)	8.50 (6.00-10.00) ^a	9.00 (7.00-11.00)	<0.001*
Besin tüketimi (4. Hafta) (gr/hafta)	12.00 (11.00-14.00)	12.50 (12.00-15.00)	8.00 (6.00-9.00) ^a	8.50 (7.00-10.00) ^a	<0.001*

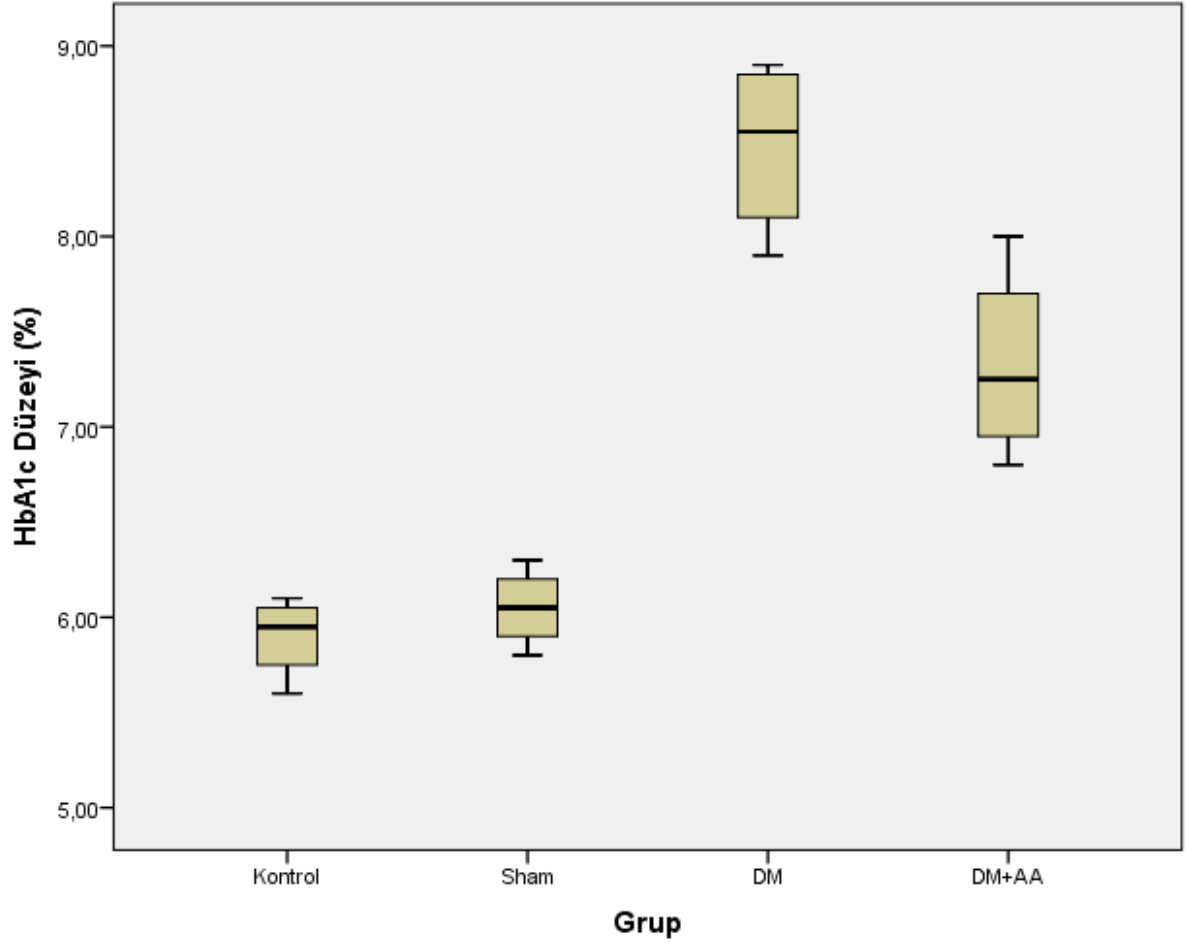
*p<0.05, istatistiksel anlamlılığı belirtir.

^ap<0.05 vs. kontrol grubu, ^bp<0.05 vs. DM grubu



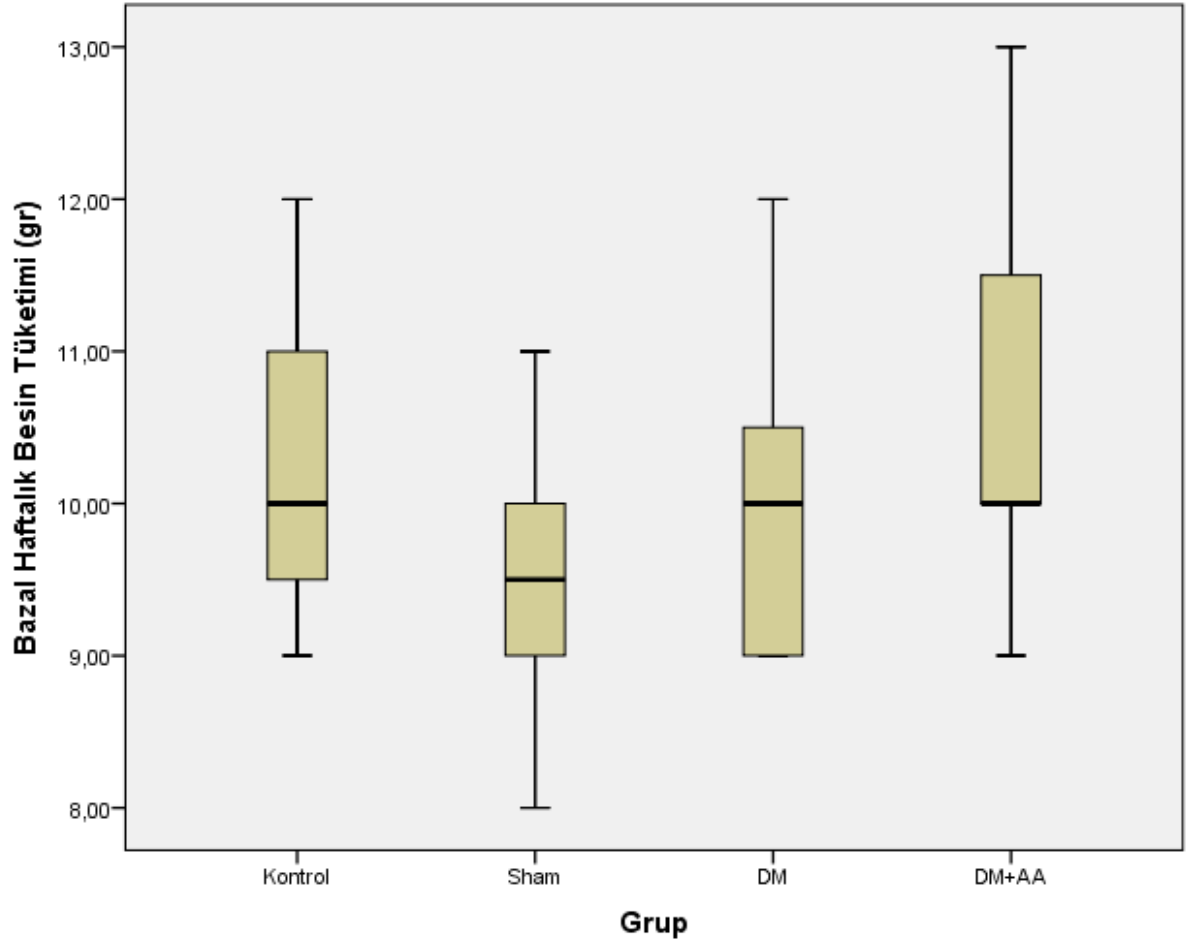
Şekil 8. Farelerin kan glukoz düzeylerinin dağılımını gösteren grafik.

Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır ($p < 0.001$).



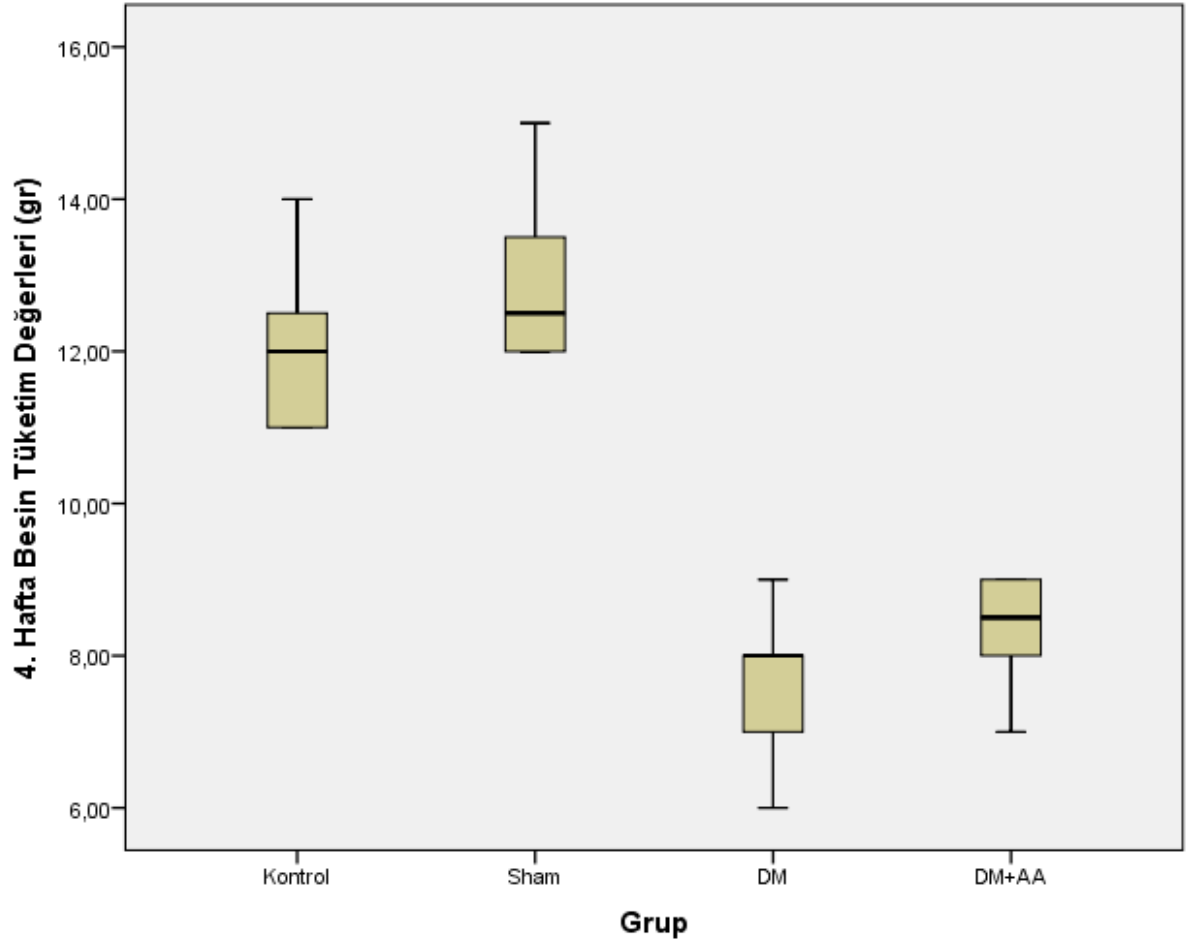
Şekil 9. Farelerin HbA1c Düzeylerinin Dağılımını Gösteren Grafik

Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır ($p = 0.001^*$).



Şekil 10. Farelerin bazal besin tüketim miktarlarının dağılımını gösteren grafik.

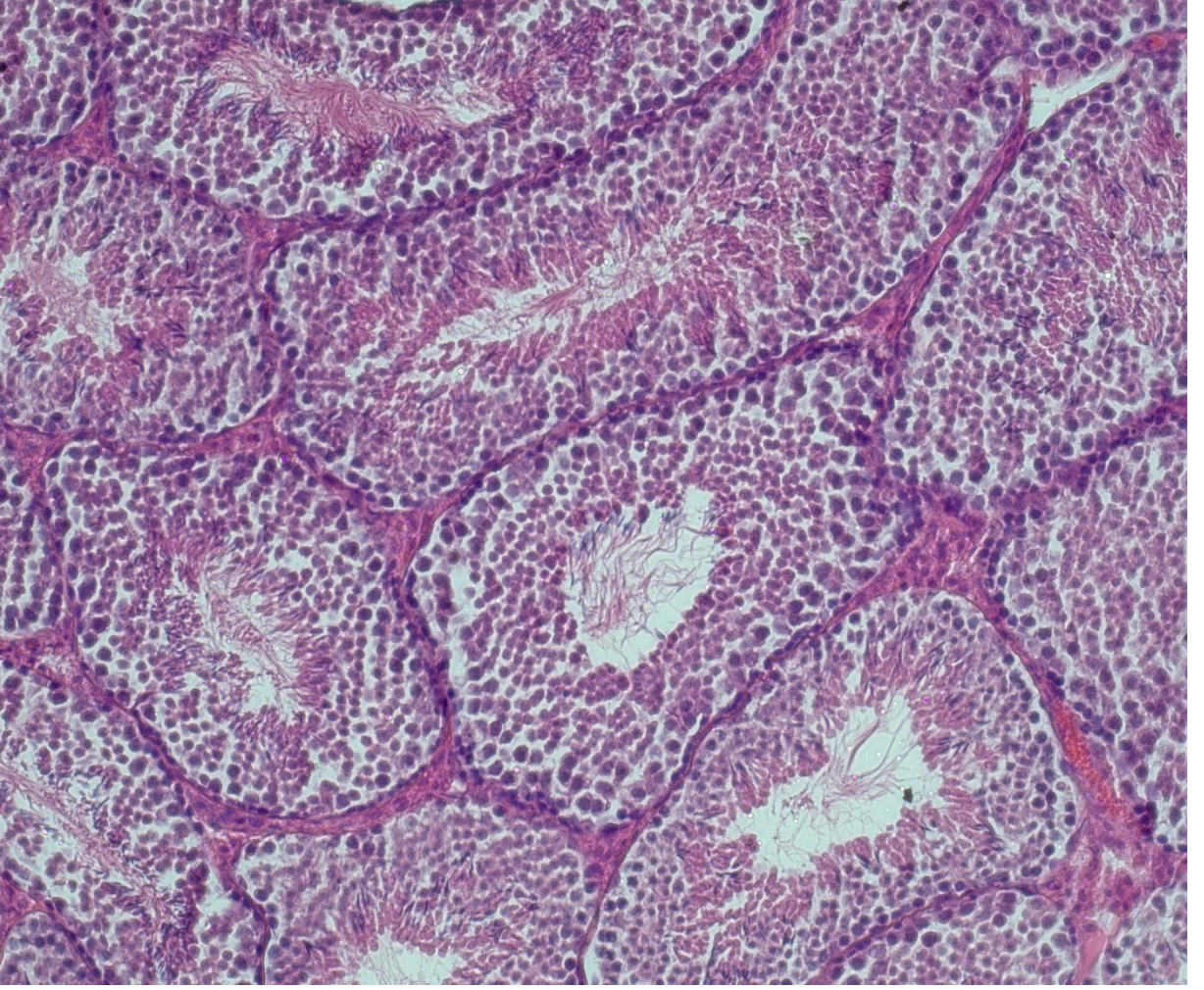
Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p=0.666$).



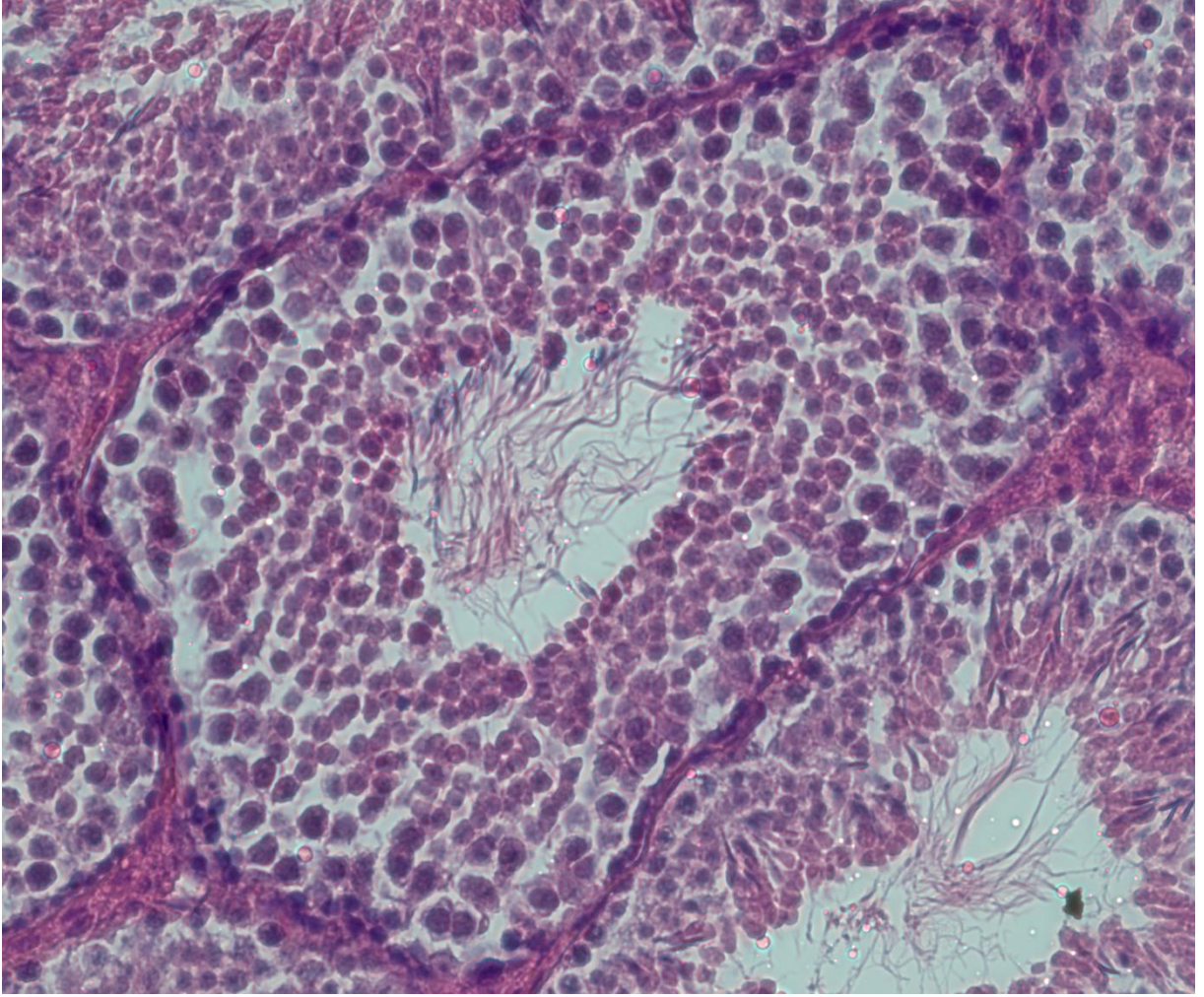
Şekil 11. Farelerin 4. hafta besin tüketim miktarlarının dağılımını gösteren grafik.

Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır ($p < 0.001$).

4.3 Histopatolojik Bulguların Değerlendirilmesi



Resim 12. Kontrol grubu testis kesitinin görünümü (H&E)

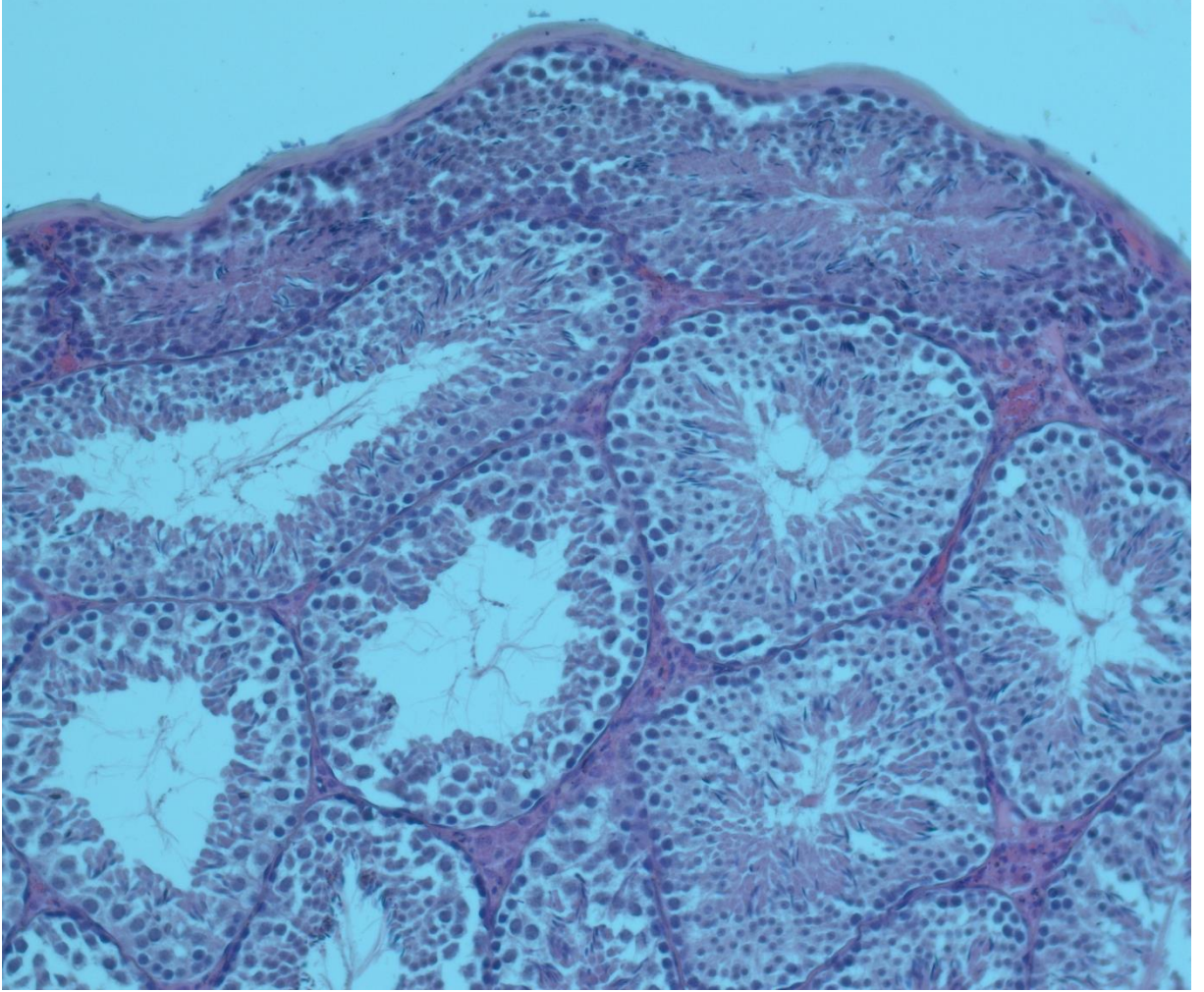


Resim 13. Kontrol grubu testis kesitinin görünümü (H&E)

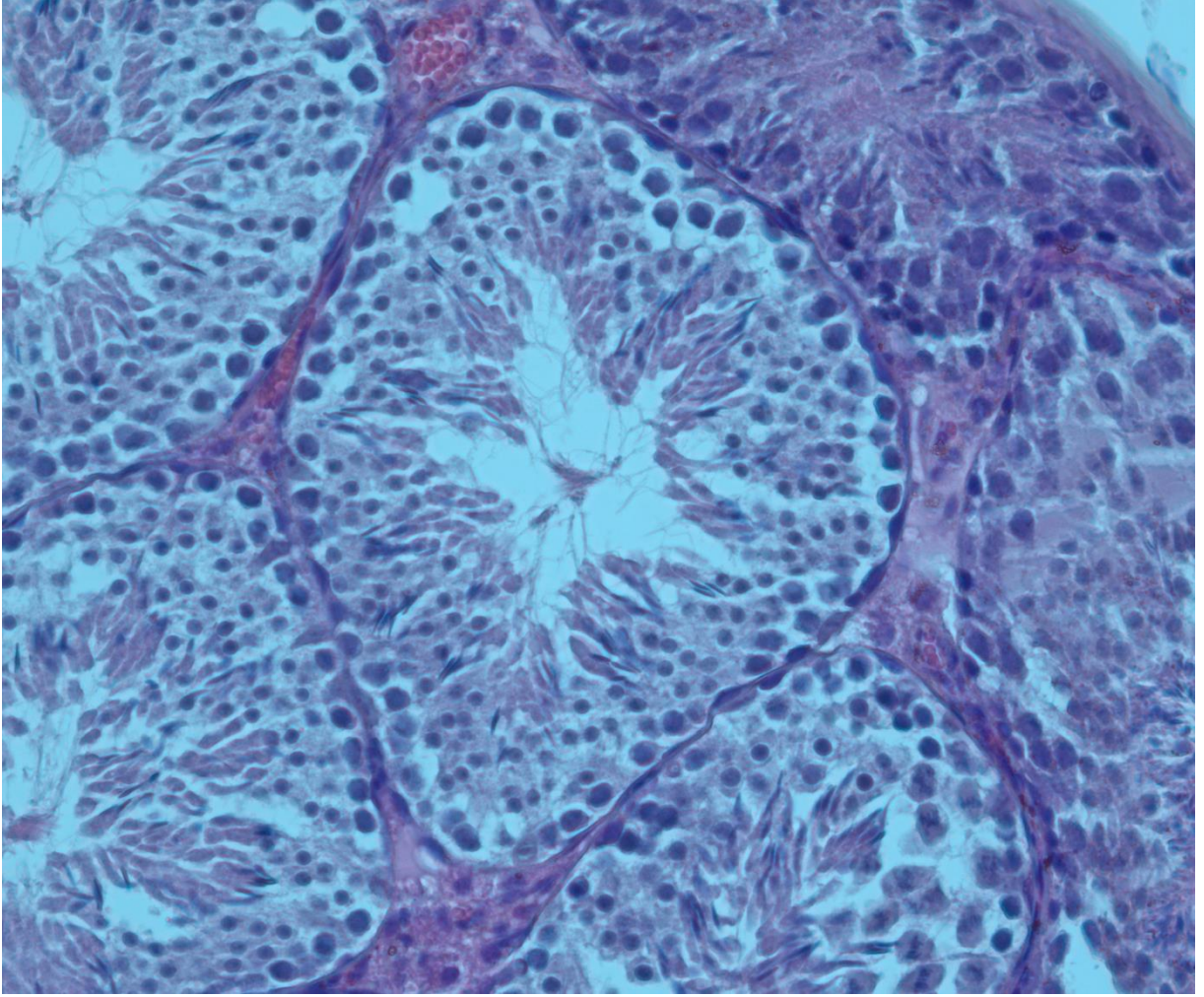
Kontrol grubundaki farelerin testis kesitlerinin ışık mikroskopik incelemesinde (Resim 13, Resim 14) seminifer tübüllerin düzenli ve sıkı biçimde yerleştiği, seminifer tübül epitelinin normal kalınlıkta olduğu ve epitel içerisinde gelişimin farklı evrelerindeki çok sayıda spermatojenik seri hücrelerinin ve bunların arasında yer alan sertoli hücrelerinin olduğu görüldü.

Spermatojenik hücreler spermatogonyumlar, primer spermatositler, spermatidler ve spermatozolden oluşmaktaydı. Spermatogonyumlar, sağlam ve düzenli bazal membran üzerinde yerleşmiş küçük yuvarlak hücreler olarak ayırt edilmekteydi. En büyük hücreler, büyük yuvarlak nükleusları olan primer spermatositlerdi. Spermatidler, yuvarlak nükleuslu, lümeneye doğru yerleşik küçük yuvarlak hücreler şeklinde görülebilmekteydi. Spermatozoidlerin baş kısmı yoğun şekilde boyanmıştı ve seminifer tübül lümenine yakın konumda yerleşmişlerdi.

Sertoli hücreleri, spermatojenik hücreler arasında uzun hücreler olarak görülebilmekteydi. Seminifer tübüllerin bazal membranının dış kısmında miyoid hücreler olarak isimlendirilen düz kas-benzeri hücreler görüldü. Seminifer tübüller arasındaki intersitisyel alanda kan damarları ve küçük kümeler halinde düzenlenmiş Leydig hücreleri ayırt edilebilmekteydi.

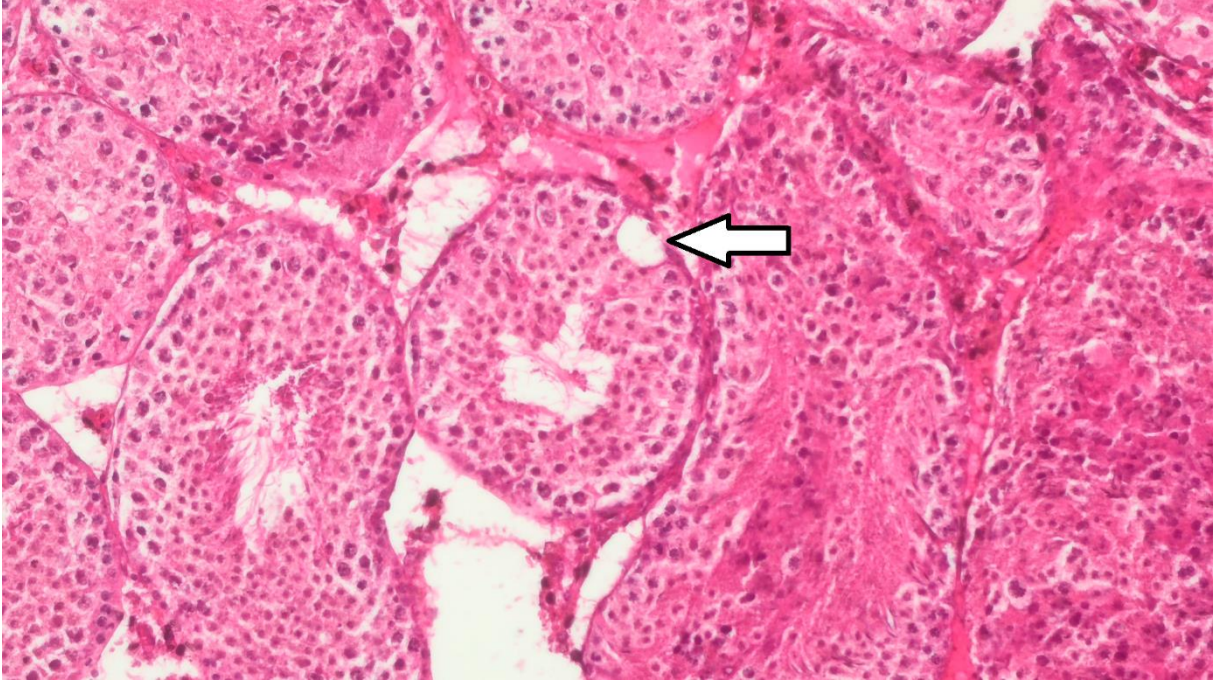


Resim 14. Sham grubu testis kesitinin görünümü (H&E)



Resim 15. Sham grubu testis kesitinin görünümü (H&E)

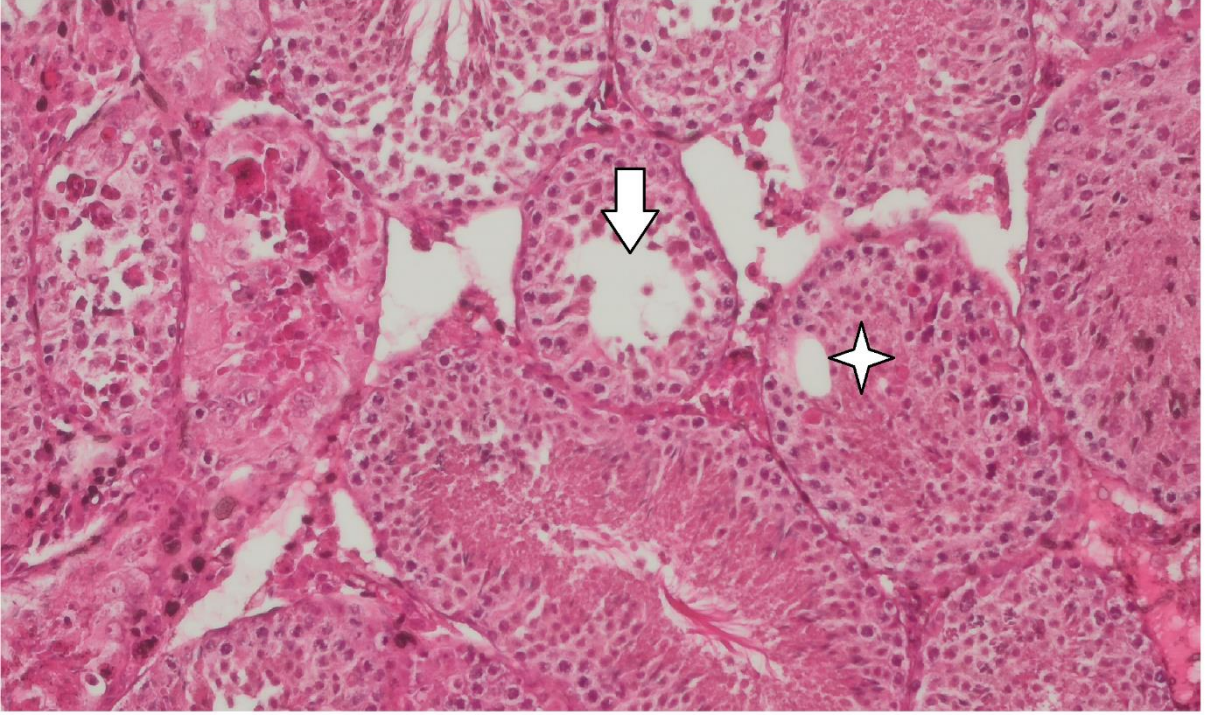
Sham grubundaki yüksek yağlı diyetle beslenen farelerde testis kesitlerinin (Resim 15, Resim 16) histolojik incelemesinde seminifer tübül duvarındaki spermatojenik seri hücrelerinin kontrol grubuna kıyasla daha düzensiz yerleştikleri görüldü. Bu minör farklılık dışında sham grubundaki farelerin testis yapılarının kontrol grubu ile benzer olduğu saptandı.



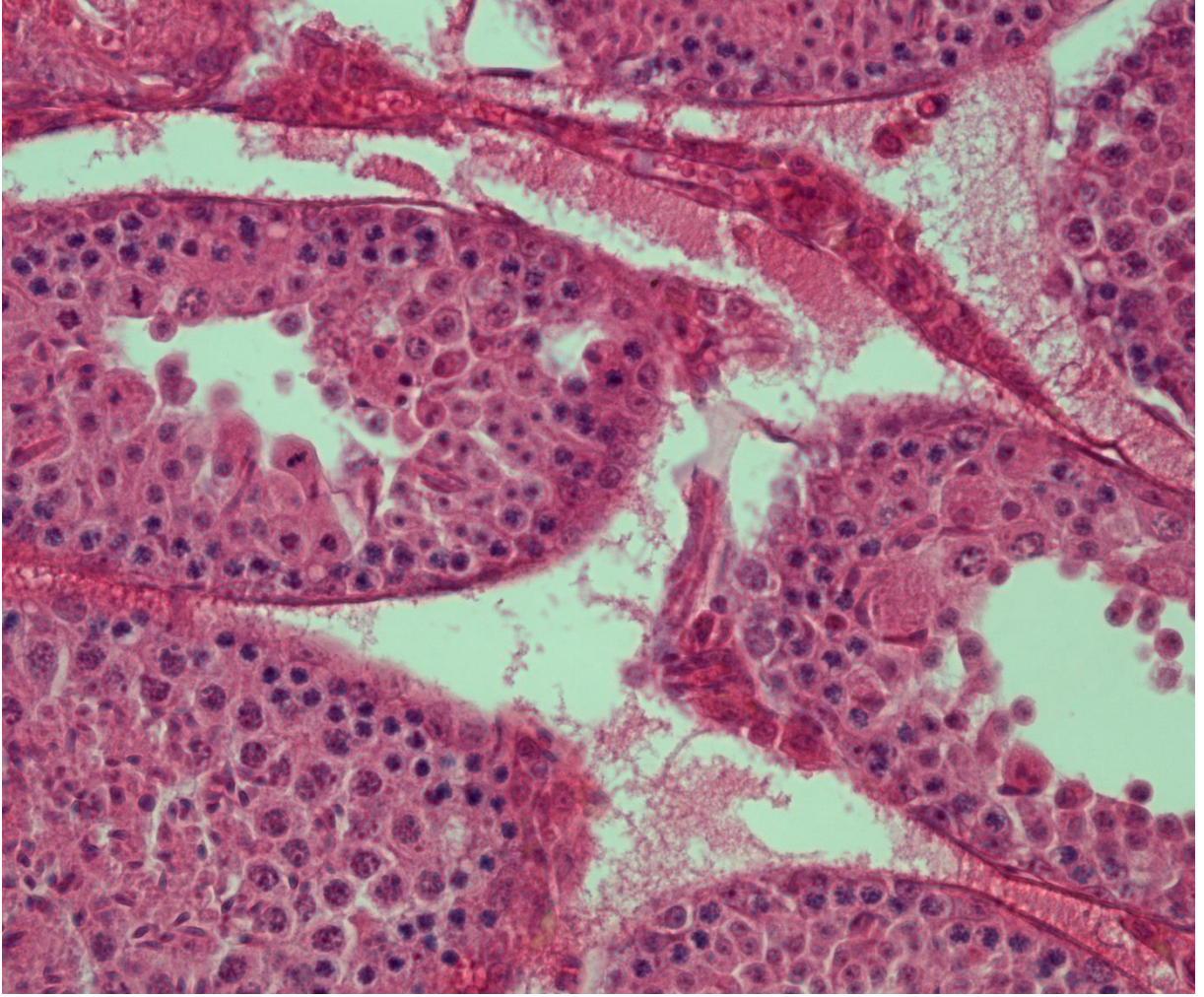
Resim 16. DM grubuna ait testis kesitinde ok ile gösterilen vakuol.



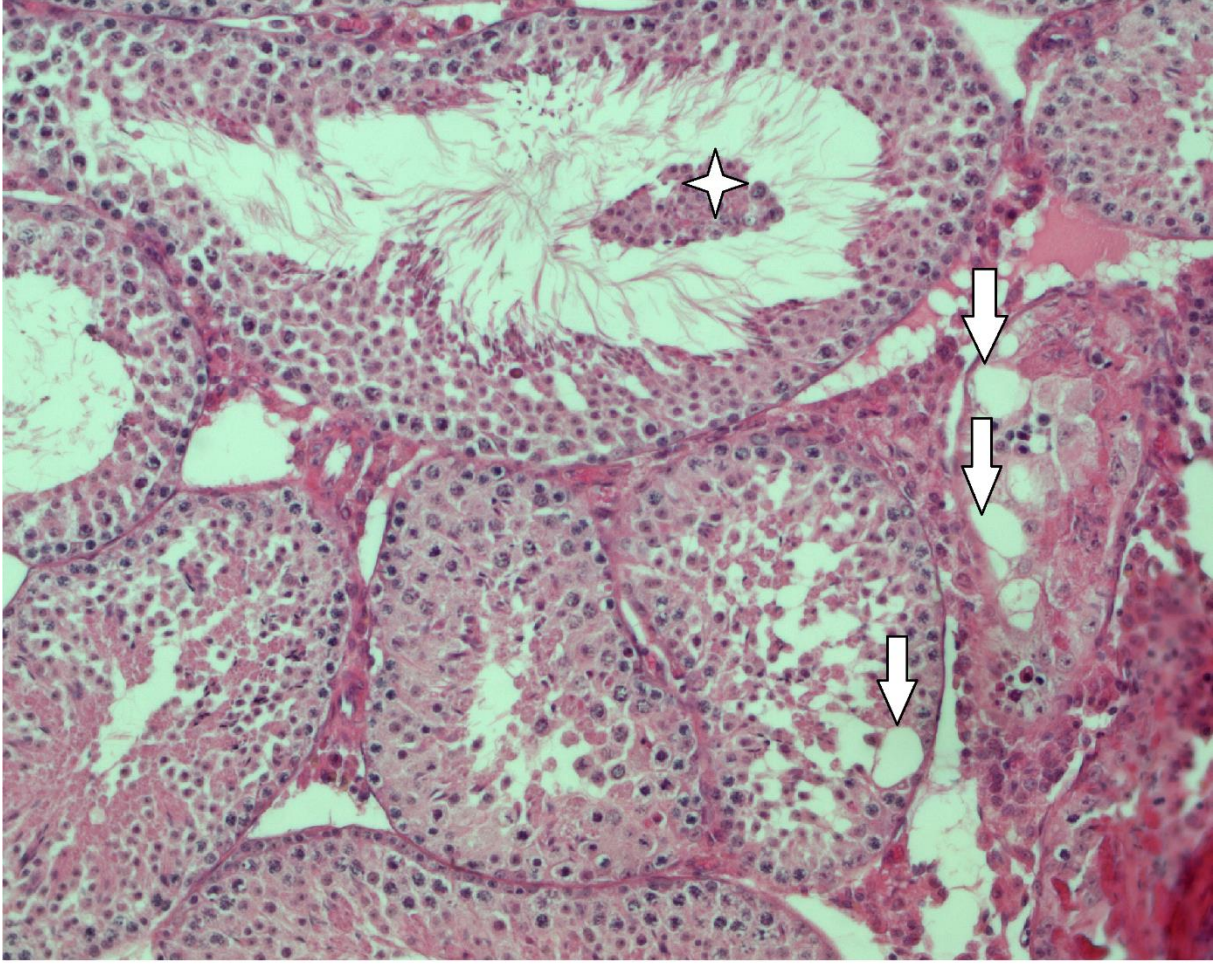
Resim 17. DM grubuna ait testis kesitinde ok ile gösterilmiş lümene dökülmüş hücreler



Resim 18. DM grubuna ait testis kesitinde lümeninde hiç spermatozoa olmayan ok ile gösterilmiş tübül ve yıldız ile gösterilmiş vakuol.

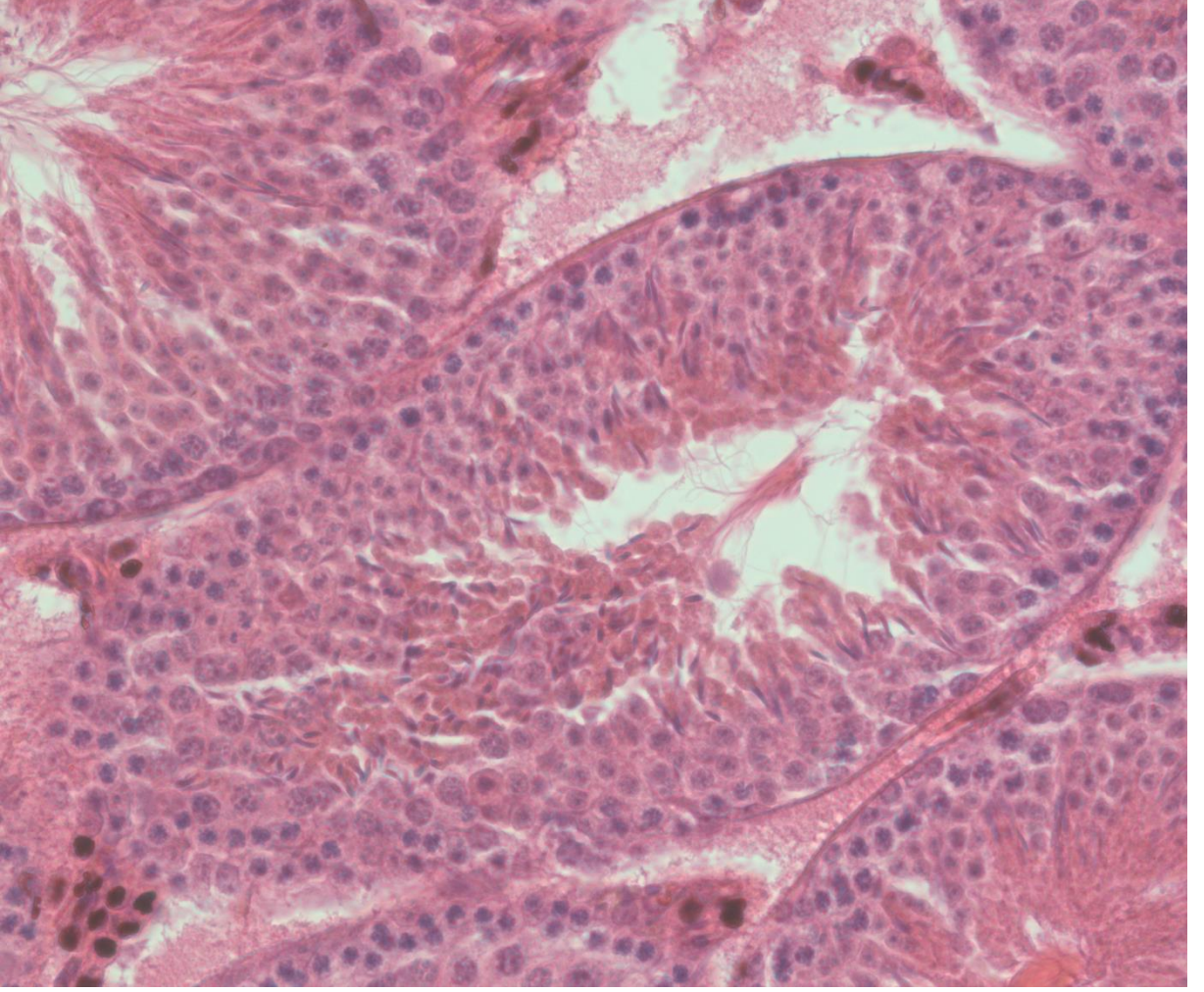


Resim 19. DM grubuna ait testis kesitinde lümeninde hiç spermatozoa bulunmayan seminifer tübüller.

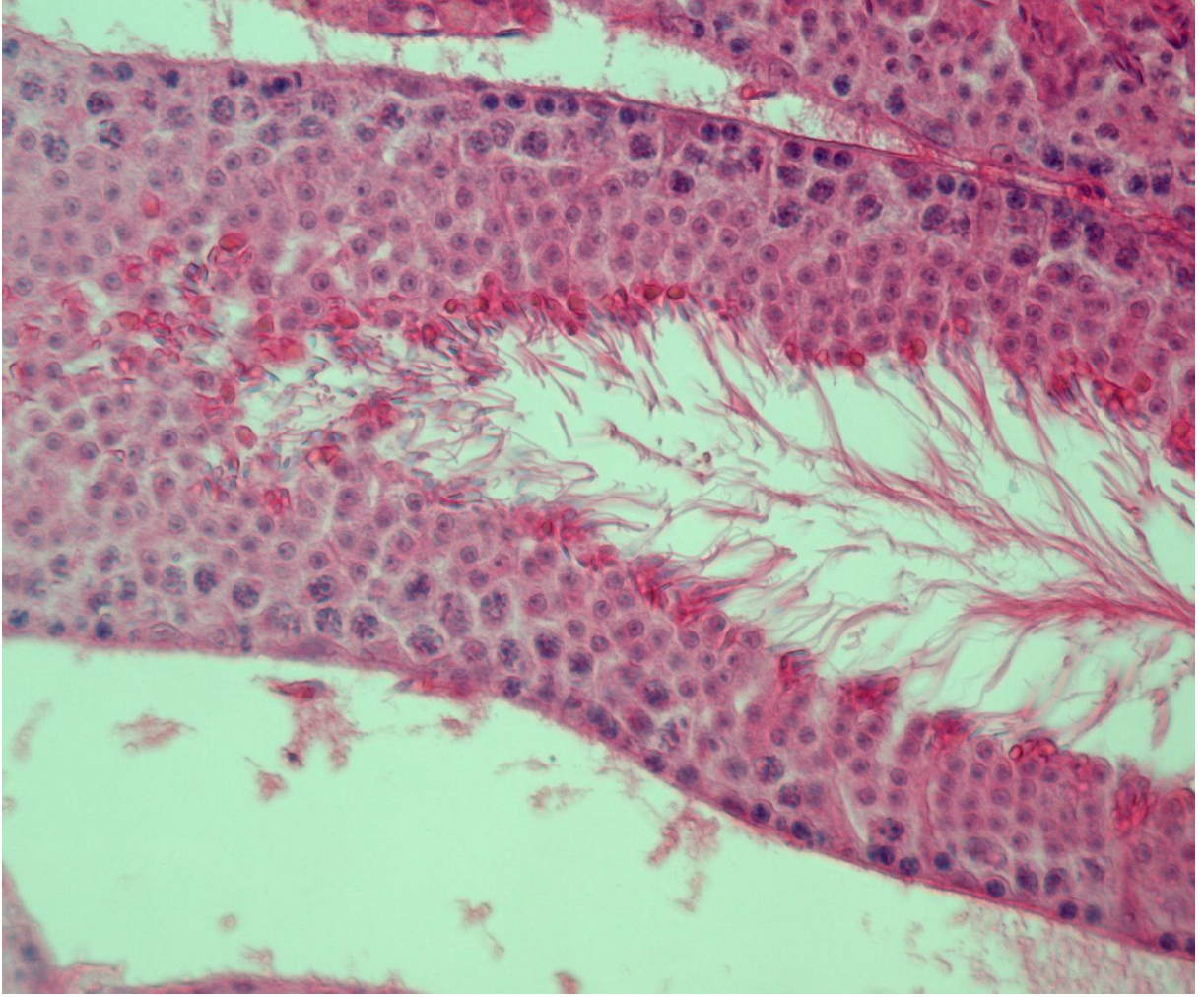


Resim 20. DM grubuna ait testis kesitinde ok ile gösterilen vakuoller ve yıldız ile gösterilen lümeni kaplayan bir kitle halinde gözlemlenen spermatojenik hücreler.

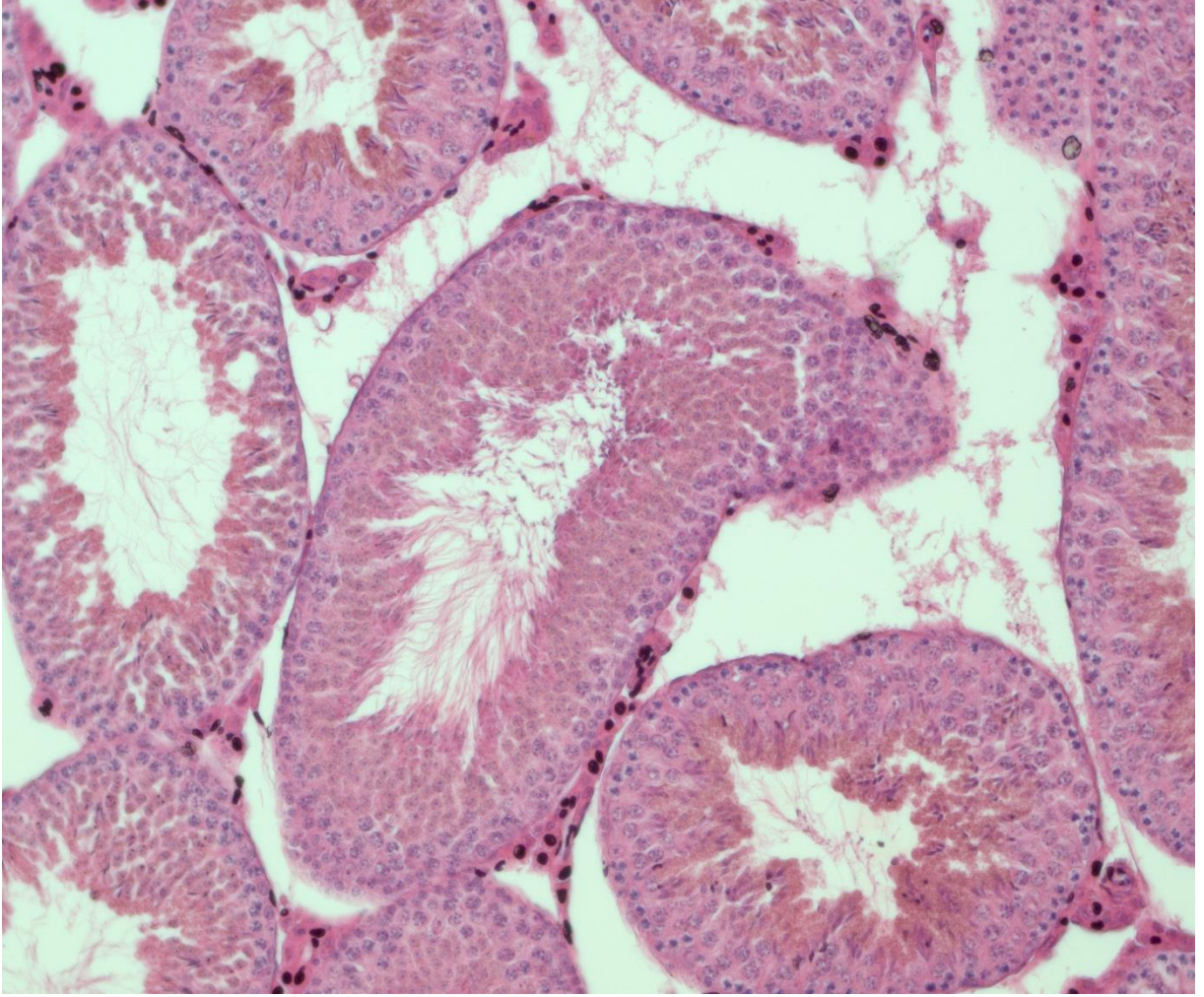
DM grubundaki farelerin testis kesitlerinin ışık mikroskopik incelemesinde, kontrol ve sham gruplarına kıyasla belirgin doku hasarı gözlemlendi. Seminifer tübüllerin kan damarları, ödem ve birkaç Leydig hücresi içeren geniş interstisyel alanlar ile birbirinden ayrıldığı görüldü. Ayrıca seminifer tübüllerin duvar kalınlığının da belirgin şekilde azaldığı ve seminifer tübül duvarında sitoplazmik vakuolizasyonlar (Resim 17, Resim 21) içeren birkaç kat spermatojenik seri hücrelerinin bulunduğu izlendi. Bazı seminifer tübüllerde spermatojenik hücrelerin lümenine döküldüğü (Resim 18) ve lümeninde hücre grupları oluşturduğu da saptandı. Resim 19 ve Resim 20’ de lümeninde hiç spermatozoa bulunmayan seminifer tübüller gösterilmiştir.



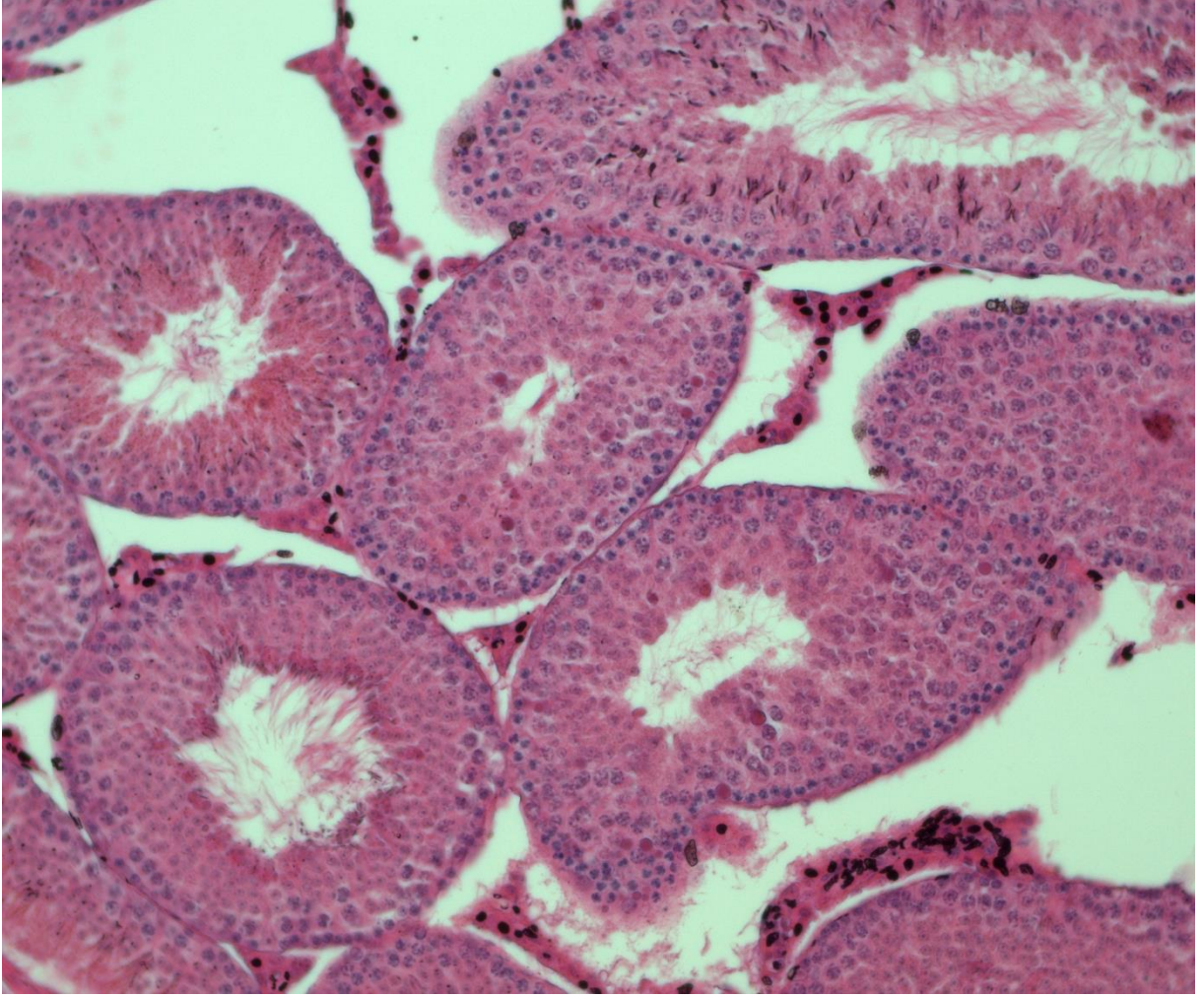
Resim 21. DM+AA grubu testis kesitinin görünümü



Resim 22. DM+AA grubu testis kesitinin görünümü



Resim 23. DM+AA grubu testis kesitinin görünümü



Resim 24. DM+AA grubu testis kesitinin görünümü

DM+AA grubundaki farelerin testis kesitlerinin ışık mikroskopik incelemesinde DM grubuna kıyasla belirgin iyileşme/düzelme olduğu gözlemlendi (Resim 22, Resim 23). Seminifer tübüllerin belirgin interstisyel alanlar ile birbirlerinden ayrılmış olmalarına karşın; seminifer duvar kalınlığının DM grubuna göre belirgin artmış olduğu görüldü. Ayrıca seminifer tübül epitelinin daha düzenli bir görünüme sahip olduğu, spermatojenik hücre tabakalarıyla döşeli olduğu ve lümenlerinde çok sayıda sperm içerdiği; daha az sayıda tübülün dejenere spermatojenik hücre içerdiği gözlemlendi (Resim 24, Resim 25).

4.4. Sperm Parametrelerinin ve Serum Testosteron Düzeylerinin Değerlendirilmesi

Çalışma gruplarındaki farelerin sperm kalitesini belirlemek amacıyla semen analizi yapılmış ve farelerin sperm sayıları, motiliteleri ve morfolojik olarak anormal sperm oranları değerlendirilerek; elde edilen bulgular Tablo 6’da gösterilmiştir.

Farelerin sperm sayıları karşılaştırıldığında DM ve DM+AA gruplarında sperm sayılarının kontrol grubuna göre anlamlı şekilde daha düşük olduğu görülmüştür ($p<0.001$). Buna ek olarak, DM+AA grubundaki farelerde sperm sayısının DM grubuna göre anlamlı olarak daha yüksek olduğu da saptanmıştır (Şekil 12).

Gruplar sperm motilitesi açısından karşılaştırıldığında ise DM ve DM+AA gruplarında hareketli sperm oranının kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük olduğu bulunmuştur ($p<0.001$). Ayrıca, DM grubunda hareketli sperm oranının DM+AA grubuna kıyasla da anlamlı biçimde düşük olduğu görülmüştür (Şekil 13).

Yapılan semen analizi sonucunda anormal morfolojiye sahip sperm oranının da gruplar arasında anlamlı farklılık gösterdiği saptanmıştır ($p<0,001$). DM ve DM+AA gruplarında (Resim 28, Resim 29) anormal morfolojiye sahip sperm oranı kontrol grubuna (Resim 26) göre anlamlı şekilde yüksek olarak bulunmuştur. DM ve DM+AA grupları karşılaştırıldığında ise, DM grubunda anormal morfolojiye sahip sperm oranının daha yüksek olduğu görülmüştür (Şekil 14).

Gruplar serum testosteron düzeyi açısından karşılaştırıldığında ise DM ve DM+AA gruplarında serum testosteron düzeyi kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük olduğu bulunmuştur ($p=0.002^*$). Ayrıca, DM+AA grubunun serum testosteron düzeyi DM grubuna kıyasla da anlamlı biçimde yüksek olduğu görülmüştür (Şekil 15).

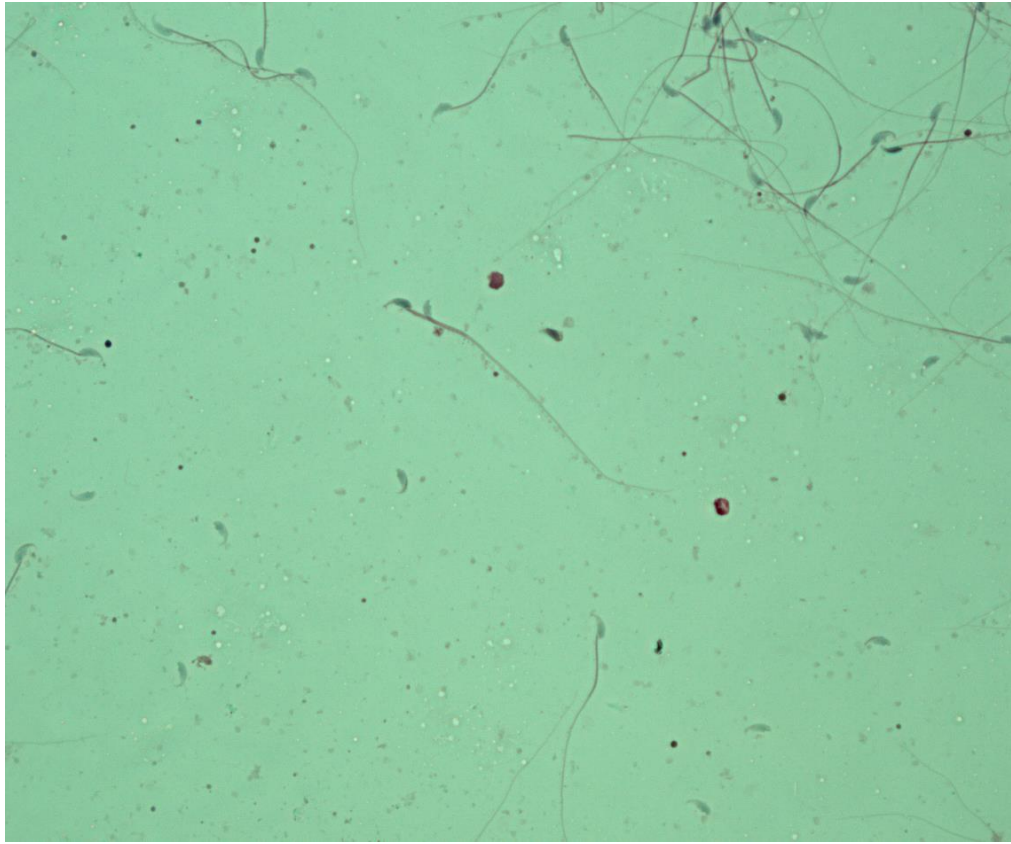
Tablo 6. Farelerin sperm parametrelerinin ve serum testosteron düzeylerinin karşılaştırılması

Parametre	Kontrol Grubu (n=8)	Sham Grubu (n=8)	DM Grubu (n=8)	DM+AA Grubu (n=8)	P Değeri
Sperm sayısı ($\times 10^6/\text{mL}$)	37.00 (34.00-42.00)	34.00 (30.00-39.00)	14.00 (11.00-21.00) ^a	24.50 (18.00-31.00) ^{a,b}	$<0.001^*$

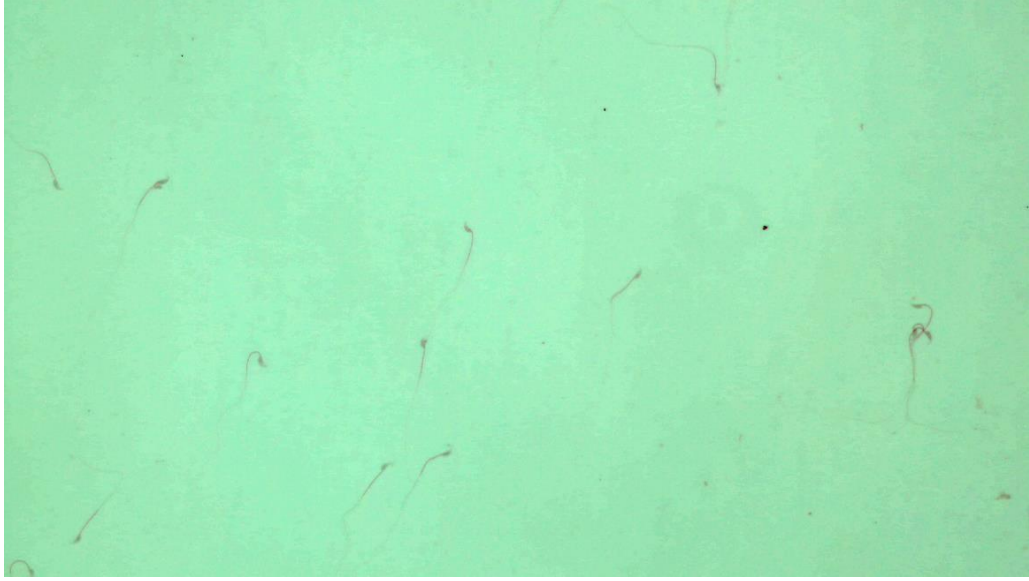
Sperm motilitesi (%)	68.31 (64.10-77.14)	67.41 (56.41-74.19)	21.43 (12.50-30.77) ^a	41.80 (36.00-47.37) ^{a,b}	<0.001*
Anormal sperm morfolojisi (%)	17.50 (13.00-22.00)	19.00 (15.00-24.00)	54.00 (44.00-66.00) ^a	32.50 (24.00-40.00) ^{a,b}	<0.001*
Serum Testosteron Düzeyi (ng/mL)	5.73 (5.22-6.48)	5.68 (4.93-6.14)	2.89 (2.55-3.03) ^a	3.84 (3.54-4.50) ^{a,b}	0.002*

* $p < 0.05$, istatistiksel anlamlılığı belirtir.

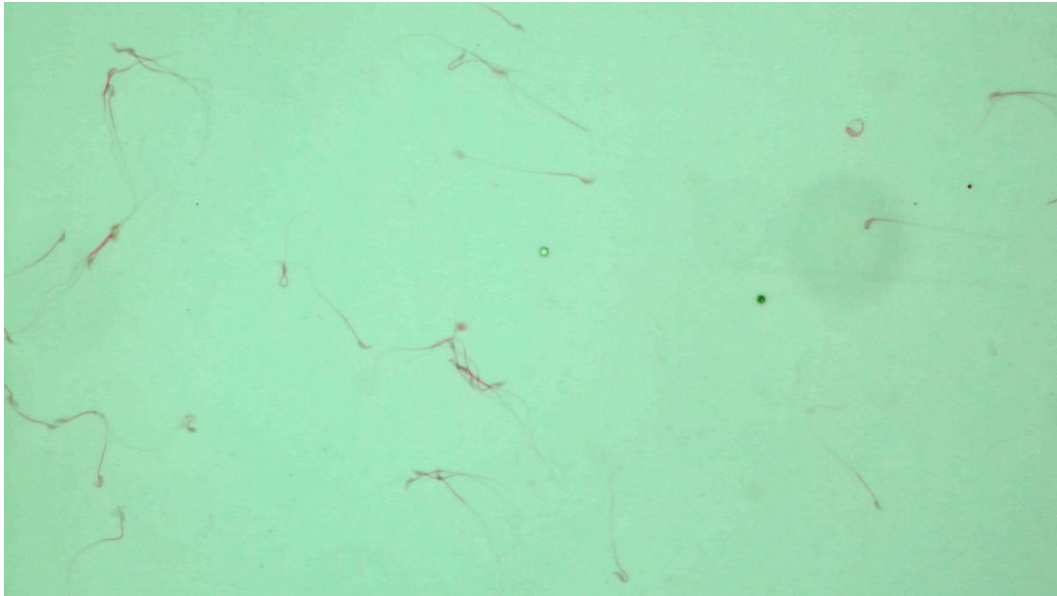
^a $p < 0.05$ vs. kontrol grubu, ^b $p < 0.05$ vs. DM grubu



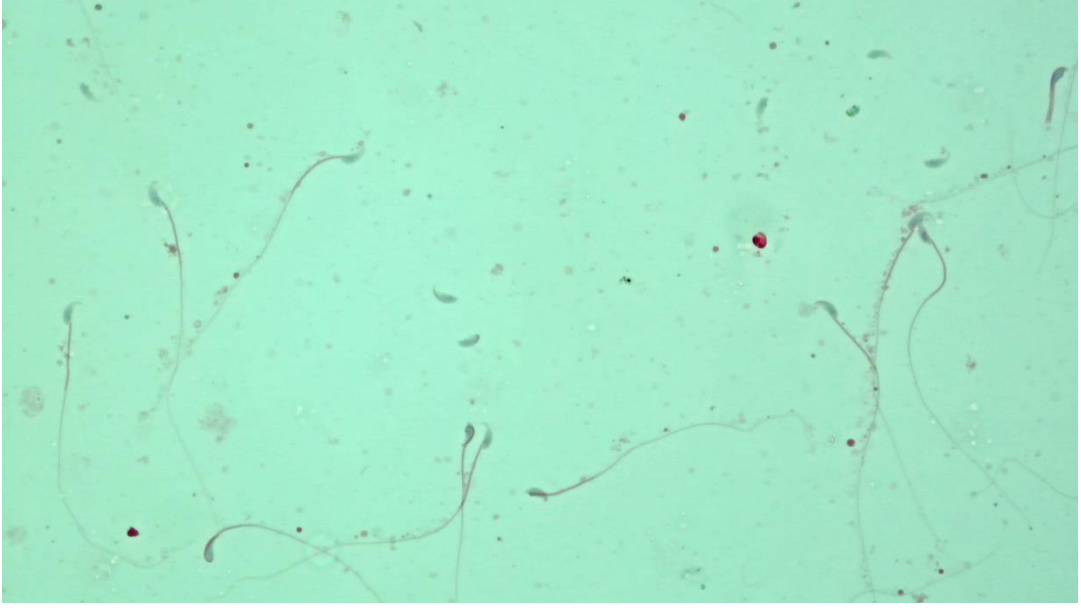
Resim 25. Kontrol grubu spermleri



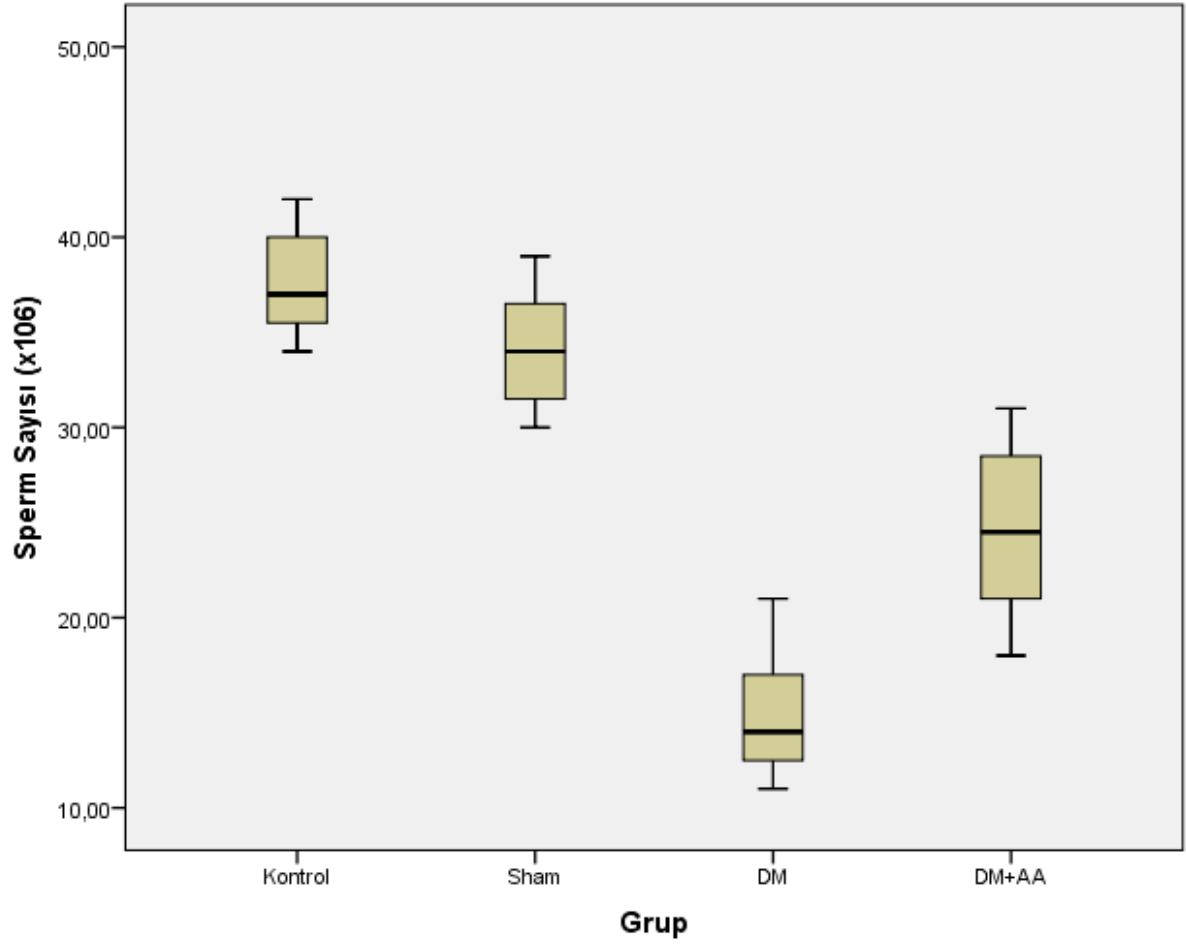
Resim 26. Sham grubu spermleri



Resim 27. DM Kontrol grubu spermleri

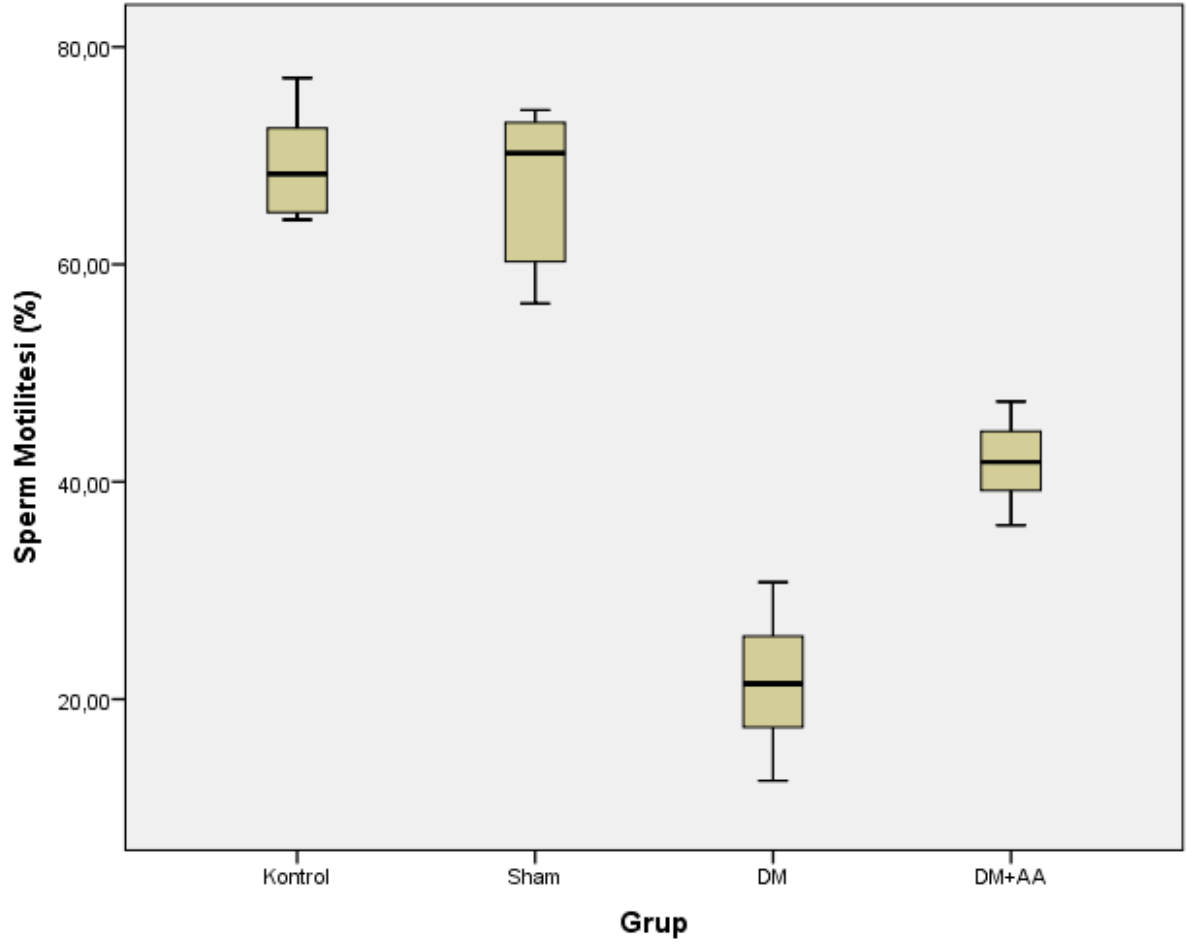


Resim 28. DM+Aralklı açlık grubu spermleri



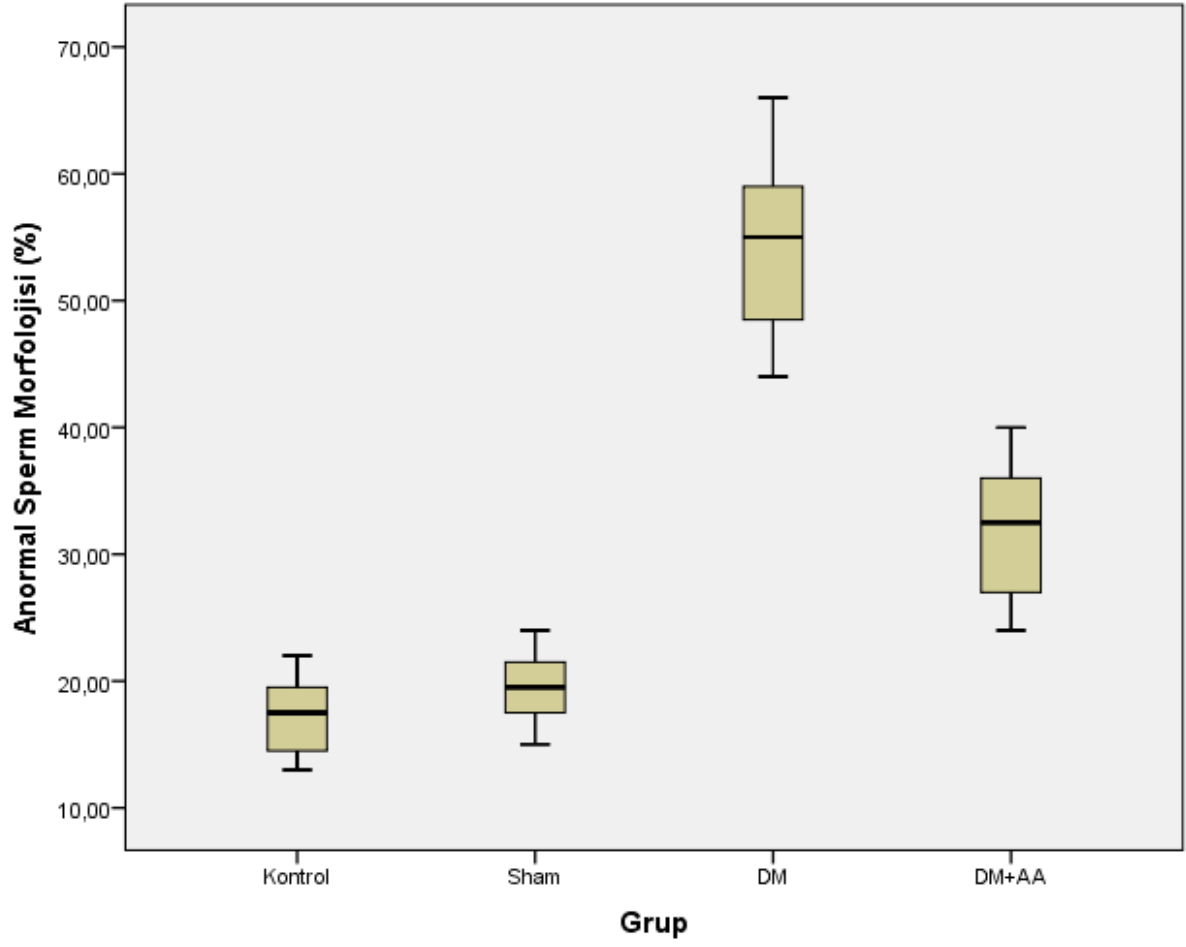
Şekil 12. Farelerin sperm sayılarının dağılımını gösteren grafik.

Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır ($p < 0.001$).



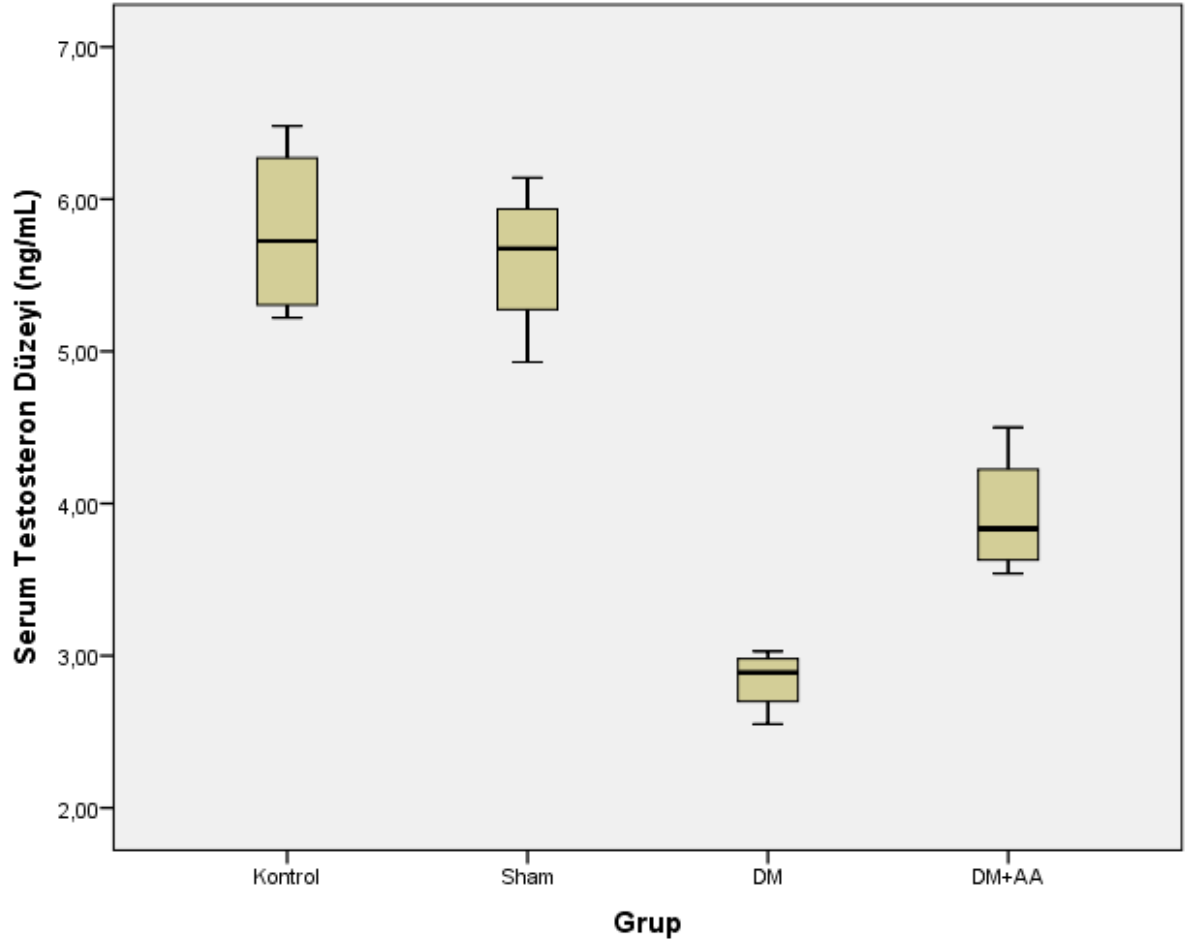
Şekil 13. Farelerin hareketli sperm oranlarının dağılımını gösteren grafik.

Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır ($p < 0.001$).



Şekil 14. Farelerin anormal morfolojiye sahip sperm oranlarının dağılımını gösteren grafik.

Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır ($p < 0.001$).



Şekil 15. Farelerin Serum Testosteron Düzeyleri Dağılımını Gösteren Grafik

Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır ($p=0.002$).

5. TARTIŞMA

Bu çalışmada streptozotosin ile indüklenmiş diyabetik fare modelinde aralıklı açlığın yapısal testis hasarı, sperm ve kan parametreleri üzerindeki etkileri incelenmiştir. Testis dokuları, sperm ve kan parametrelerinde diyabet grubuna kıyasla belirgin iyileşme/düzelme olduğu gözlenmiştir. Seminifer duvar kalınlığının diyabet grubuna göre belirgin artmış olduğu, seminifer tübül epitelinin daha düzenli bir görünüme sahip olduğu, spermatojenik hücre tabakalarıyla döşeli olduğu ve lümenlerinde çok sayıda sperm içerdiği; daha az sayıda tübülün dejenere spermatojenik hücre içerdiği gözlenmiştir. Sperm sayısı ve motilitesinde anlamlı bir artış ve anormal morfolojiye sahip sperm sayısında azalma görülmüştür. Serum testosteron düzeyinde de diyabetik gruba kıyasla aralıklı açlık grubunda anlamlı bir artış saptanmıştır. HbA1c düzeyi aralıklı açlık grubunda daha düşük bulunmuştur.

Hayvan deneyleri ve diyabetik hastalarda yapılan çalışmalarda erkek üreme potansiyelinde endokrin bozukluklar, nöropati ve artmış oksidatif stresi içeren diyabete bağlı değişikliklerden sorumlu moleküler mekanizmalar araştırılmıştır (La Vignera ve diğerleri, 2012). Bu çalışmalarda diyabetin erkek üreme fonksiyonlarında DNA hasarlı spermelere neden olarak sperm kalitesinde bozulmaya, azalmış sperm motilitesi ve semen hacmine neden olduğu, ayrıca düşük testosteron düzeyleri ve testiküler disfonksiyon gibi olumsuz etkilere sahip olduğu gösterilmiştir (Alves ve diğerleri, 2013; Dias ve diğerleri, 2014; Jangir ve Jain, 2014). Streptozotosin ile deneysel diyabet modelinin oluşturulduğu çalışmalarda, diyabetik hayvanların ağırlıklarının ilerleyen günlerle birlikte anlamlı bir şekilde azaldığı bildirilmiştir (Ballester ve diğerleri, 2004; Khaki ve diğerleri, 2010). Diyabetik hayvanda vücut ağırlığının protein ve lipidlerin yıkılması, terleme ve aşırı idrar atılımıyla oluşan dehidratasyon sonucu azaldığı düşünülmektedir. Çalışmamızda da literatürle uyumlu şekilde diyabet gruplarının vücut ağırlığının istatistiksel olarak anlamlı derecede azaldığı saptanmıştır. Testis ağırlığında azalma, seminifer tübül yapısında bozulmayla birlikte seminifer tübüllerde atrofi ve spermatogenik seri hücrelerinde azalmaların görüldüğü bildirilmiştir (Kanter ve diğerleri, 2012; Ramalho-Santos ve diğerleri, 2008). Çalışmamızda literatürlere paralel olarak diyabet grubunu oluşturan farelerin testis doku kesitlerinde kontrol grubuna kıyasla histopatolojik olarak; seminifer tübüllerde şekil bozuklukları, bazal membranlarda bozulmalar, gelişimini tamamlayamadan tübül lümenine dökülen hücreler, hücreSEL vakuolizasyonlar, tübül

lūmeninde daralmalar, germinal epitelde organizasyon bozukluęu ve tūbūllerin etrafını saran baę dokuda yer yer kalınlařmalar gözlenmiřtir. Bazı seminifer tūbūllerin lūmeninde hię spermatozoa yoktu veya çok az sayıda vardı. Seminifer tūbūller kan damarları, ödem ve birkaç Leydig hücresi içeren geniř interstisyal alanlar ile birbirinden ayrılıyordu. Birkaç seminifer tūbūlde spermatojenik hücreler sayıca artmış ve lūmeni kaplayan hücre grupları halinde gözlemlenmiştir. Karşılařtığımız bu histopatolojik bulgular, daha önce yapılmış pek çok çalıřma ile paralellik göstermektedir.

Aralıklı açlık grubumuzda streptozotosin enjeksiyonu sonrası 4 hafta aralıklı açlık (16/8) beslenme protokolü uygulanmıştır. Literatürde aralıklı açlık uygulanan hayvanlarda genellikle beslenme periyodunda tıka basa yiyerek kendilerini açlık periyoduna dolu hazırladıkları ve vücut ağırlığını kaybetmemeye çalıştıkları görülmüştür (Trepanowski ve diğerleri, 2011). Bu durum bizim çalışmamızla da uyumludur. Diyabetik kontrol grubu, aralıklı açlık grubuna göre daha fazla ağırlık kaybetmiştir. Bu durum aynı zamanda aralıklı açlık grubunun kısıtlı beslenmesine rağmen besin tüketimi ad libitum olarak sağlanan diyabetik kontrol grubuna göre bazı haftalar kısmen daha fazla besin tüketimi göstermesini desteklemiştir. İnsanlarda yapılan aralıklı açlık çalışmaları da benzer sonucu göstermiştir. Beslenme periyodunda normalin üzerinde tıka basa besin tüketimi sonucunda aralıklı açlığın uygulanmadığı günlere kıyasla tüketilen kalori miktarında kısmi azalma ile kilo kaybında azalmalar olabildiği görülmüştür. (Heilbronn ve diğerleri, 2005)

Literatürdeki hayvan çalışmalarından elde edilen sonuçlar aralıklı açlık beslenme yaklaşımının; vücut ağırlığı, toplam kolesterol ve trigliserit, glukoz, insülin, interlökin 6 ve tümör nekroz faktörü- α konsantrasyonlarındaki azalmaların yanı sıra insülin duyarlılığındaki gelişmelerle ilişkili olduğunu göstermektedir (Rothschild ve diğerleri, 2014).

Açlık, karaciğer glikojen rezervinin bitmesine, yağ asitlerinin yağ dokusu ve karaciğerde β -oksidasyonun uyarılmasıyla keton üretiminin (β -hidroksibütirat) artmasına neden olur. NAD⁺ sirtuinlerin deasetilaz aktivitesinin aktivasyonu ile otofaji meydana gelir ve oksidatif stres azalır (Rajpal ve Ismail-Beigi, 2020).

Bizde çalışmamızda oksidatif hasarı baskılamak, otofajiyi indüklemek, inflamasyonu ve apoptozu baskılamak gibi yolaklar üzerinden testislerdeki diyabete bağlı hasar oluşumunu hafifletebilmeyi, sperm kalitesini artırabilmeyi amaçladık.

Aralıklı açlık ile tedavi edilen grubun testis kesitlerinin ışık mikroskopik incelemesinde iyileşme/düzelme olduğu gözlenmiştir. Bazı seminifer tübüllerin düzenli bir görünüme sahip olduğu, spermatojenik hücre tabakalarıyla döşeli olduğu ve lümenlerinde çok sayıda sperm içerdiği, daha az sayıda tübülün dejenerat spermatojenik hücre içerdiği gözlenmiştir. Seminifer tübüller ve germinal epitelde diyabetik gruba göre kısmi iyileşmeler kaydedilmiştir. Spermatojenik seri devam etmiş, spermatidler oluşmuş, sperm hücreleri görülmüştür. Kontrol grubuna kıyasla diyabetik grubun ortalama Leydig hücre sayısında önemli bir azalma vardı. Aralıklı açlık ile tedavi edilen grupta diyabetik gruba kıyasla ortalama Leydig hücre sayısında artış gözlenmiştir. Sperm sayısı ve motilitesinde artış, anormal morfolojiye sahip sperm oranında azalma gözlenmiştir. Testosteron düzeylerinde de diyabetik gruba kıyasla anlamlı bir artış söz konusudur.

Elde ettiğimiz sonuçlara göre aralıklı açlık beslenme yaklaşımı diyabete bağlı testis hasarı ve erkek infertilitesinin tedavisinde olumlu sonuçlar ortaya koymuştur. Gelecekteki çalışmalar, dişi infertilitesinde beslenme yaklaşımlarının etkilerini incelemelidir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sonuçlar

- Diyabetik farelerde vücut ve testis ağırlıklarında belirgin düşüş gözlemlendi. En fazla vücut ve testis ağırlık kaybı diyabetik kontrol grubunda görüldü.
- Farelerin kan glukoz düzeyleri diyabet ve diyabet+aralıklı açlık gruplarında kontrol grubuna göre anlamlı şekilde daha yüksek olarak ölçülmüştür. Diyabet+Aralıklı açlık grubunda kan glukoz düzeylerinin diyabet grubuna göre bir miktar daha düşük olduğu görülmüştür; ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.
- HbA1c düzeyi diyabetik gruba kıyasla aralıklı açlık grubunda anlamlı şekilde daha düşük olarak ölçülmüştür.
- Aralıklı açlık grubunda diyabet grubuna kıyasla testis dokuları ve sperm parametrelerinde belirgin iyileşme/düzelme olduğu gözlemlendi.
- Diyabetin neden olduğu azalan sperm sayısı ve motilitesinde aralıklı açlık beslenme yaklaşımı ile artış saptandı. Anormal morfolojiye sahip sperm oranı azaldı.
- Diyabetik farelerin serum testosteron düzeylerinde belirgin düşüş gözlemlendi.
- Diyabet+Aralıklı açlık grubunun serum testosteron düzeylerinde diyabet grubuna kıyasla anlamlı bir artış söz konusudur.

Sonuçlar aralıklı açlık beslenme yaklaşımının diyabete bağlı erkek infertilitesinde tedaviyi destekleyebilecek alternatif bir yöntem olabileceğini göstermiştir.

KAYNAKLAR

- (2) Classification and diagnosis of diabetes. (2015). *Diabetes Care*, 38 Suppl, S8–S16.
<https://doi.org/10.2337/DC15-S005>
- Alaboud, A. F., Tourkmani, A. M., Alharbi, T. J., Alobikan, A. H., Abdelhay, O., Al Batal, S. M., Alkhashan, H. I., Mohammed, U. Y. (2016). Microvascular and macrovascular complications of type 2 diabetic mellitus in Central, Kingdom of Saudi Arabia. *Saudi Medical Journal*, 37(12), 1399–1403. <https://doi.org/10.15537/SMJ.2016.12.17062>
- Alves, M. G., Martins, A. D., Rato, L., Moreira, P. I., Socorro, S., Oliveira, P. F. (2013). Molecular mechanisms beyond glucose transport in diabetes-related male infertility. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease*, 1832(5), 626–635.
<https://doi.org/10.1016/J.BBADIS.2013.01.011>
- Anton, S. D., Moehl, K., Donahoo, W. T., Marosi, K., Lee, S. A., Mainous, A. G., Leeuwenburgh, C., Mattson, M. P. (2018). Flipping the Metabolic Switch: Understanding and Applying the Health Benefits of Fasting. *Obesity (Silver Spring, Md.)*, 26(2), 254–268. <https://doi.org/10.1002/OBY.22065>
- Ballester, J., Muñoz, M. C., Domínguez, J., Rigau, T., Guinovart, J. J., Rodríguez-Gil, J. E. (2004). Insulin-Dependent Diabetes Affects Testicular Function by FSH- and LH-Linked Mechanisms. *Journal of Andrology*, 25(5), 706–719. <https://doi.org/10.1002/J.1939-4640.2004.TB02845.X>
- Bruning, J. C., Gautam, D., Burks, D. J., Gillette, J., Schubert, M., Orban, P. C., Klein, R., Krone, W., Muller-Wieland, D., Kahn, C. R. (2000). Role of brain insulin receptor in control of body weight and reproduction. *Science (New York, N.Y.)*, 289(5487), 2122–2125. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.289.5487.2122>

Cahill, G. F., Veech, R. L. (2003). Ketoacids? Good medicine? *Transactions of the American Clinical and Climatological Association*, 114, 149.

[/pmc/articles/PMC2194504/?report=abstract](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16111111/)

Catenacci, V. A., Pan, Z., Ostendorf, D., Brannon, S., Gozansky, W. S., Mattson, M. P., Martin, B., MacLean, P. S., Melanson, E. L., Troy Donahoo, W. (2016). A randomized pilot study comparing zero-calorie alternate-day fasting to daily caloric restriction in adults with obesity. *Obesity (Silver Spring, Md.)*, 24(9), 1874–1883.

<https://doi.org/10.1002/OBY.21581>

Di Francesco, A., Di Germanio, C., Bernier, M., De Cabo, R. (2018). A time to fast. *Science*, 362(6416), 770–775. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.AAU2095>

Dias, T. R., Alves, M. G., Silva, B. M., Oliveira, P. F. (2014). Sperm glucose transport and metabolism in diabetic individuals. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 396(1–2), 37–45. <https://doi.org/10.1016/J.MCE.2014.08.005>

Hassan, M. A. M., Killick, S. R. (2003). Effect of male age on fertility: evidence for the decline in male fertility with increasing age. *Fertility and Sterility*, 79 Suppl 3(SUPPL. 3), 1520–1527. [https://doi.org/10.1016/S0015-0282\(03\)00366-2](https://doi.org/10.1016/S0015-0282(03)00366-2)

Heilbronn, L. K., Smith, S. R., Martin, C. K., Anton, S. D., Ravussin, E. (2005). Alternate-day fasting in nonobese subjects: effects on body weight, body composition, and energy metabolism. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 81(1), 69–73.

<https://doi.org/10.1093/AJCN/81.1.69>

IDF Diabetes Atlas: Sixth edition SAHMRI (2014).

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

<https://doi.org/10.2174/1573399810666140606111745>

- Kanter, M., Aktas, C., Erboga, M. (2012a). Protective effects of quercetin against apoptosis and oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rat testis. *Food and Chemical Toxicology*, 50(3–4), 719–725. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2011.11.051>
- Kanter, M., Aktas, C., Erboga, M. (2012b). Protective effects of quercetin against apoptosis and oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rat testis. *Food and Chemical Toxicology*, 50(3–4), 719–725. <https://doi.org/10.1016/J.FCT.2011.11.051>
- Khaki, A., Fathiazad, F., Nouri, M., Khaki, A. A., Maleki, N. A., Khamnei, H. J., Ahmadi, P. (2010). Beneficial effects of quercetin on sperm parameters in streptozotocin-induced diabetic male rats. *Phytotherapy Research*, 24(9), 1285–1291. <https://doi.org/10.1002/PTR.3100>
- Khazrai, Y. M., Defeudis, G., Pozzilli, P. (2014). Effect of diet on type 2 diabetes mellitus: A review. *Diabetes/Metabolism Research and Reviews*, 30(S1), 24–33. <https://doi.org/10.1002/DMRR.2515>
- Kruger, T. F., Acosta, A. A., Simmons, K. F., Swanson, R. J., Matta, J. F., Veeck, L. L., Morshedi, M., Brugo, S. (1987). New method of evaluating sperm morphology with predictive value for human in vitro fertilization. *Urology*, 30(3), 248–251. [https://doi.org/10.1016/0090-4295\(87\)90246-9](https://doi.org/10.1016/0090-4295(87)90246-9)
- Kumar, N., Singh, A. (2015). Trends of male factor infertility, an important cause of infertility: A review of literature. *Journal of Human Reproductive Sciences*, 8(4), 191. <https://doi.org/10.4103/0974-1208.170370>
- Kurçer ve Karaoğlu, Zonguldak, Numune Hastanesi Beyin ve Sinir Cerrahisi Bölümü, (2012). *Derleme Review* 34.
- Kushwaha, S., Jena, G. B. (2012). Enalapril reduces germ cell toxicity in streptozotocin-induced diabetic rat: investigation on possible mechanisms. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 385(2), 111–124. <https://doi.org/10.1007/S00210-011-0707-X>

- La Vignera, S., Condorelli, R., Vicari, E., D'Agata, R., Calogero, A. E. (2012). Diabetes mellitus and sperm parameters. *Journal of Andrology*, 33(2), 145–153.
<https://doi.org/10.2164/JANDROL.111.013193>
- Longo, V. D., Mattson, M. P. (2014). Fasting: molecular mechanisms and clinical applications. *Cell Metabolism*, 19(2), 181–192.
<https://doi.org/10.1016/J.CMET.2013.12.008>
- Moore, K. (2002). *Klinik yönleri ile insan embriyolojisi*. Nobel Tıp Kitabevleri.
- Patterson, R. E., Laughlin, G. A., LaCroix, A. Z., Hartman, S. J., Natarajan, L., Senger, C. M., Martínez, M. E., Villaseñor, A., Sears, D. D., Marinac, C. R., Gallo, L. C. (2015). INTERMITTENT FASTING AND HUMAN METABOLIC HEALTH. *Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics*, 115(8), 1203.
<https://doi.org/10.1016/J.JAND.2015.02.018>
- Rajpal, A., Ismail-Beigi, F. (2020). Intermittent fasting and “metabolic switch”: Effects on metabolic syndrome, prediabetes and type 2 diabetes. *Diabetes, Obesity & Metabolism*, 22(9), 1496–1510. <https://doi.org/10.1111/DOM.14080>
- Ramalho-Santos, J., Amaral, S., Oliveira, P. (2008). Diabetes and the Impairment of Reproductive Function: Possible Role of Mitochondria and Reactive Oxygen Species. *Current Diabetes Reviews*, 4(1), 46–54. <https://doi.org/10.2174/157339908783502398>
- Razavi, S., Vaez, A., Mardani, M. (2014). Impact of saffron on rat sperm membrane integrity and spermatogenesis status. *Advanced Biomedical Research*, 3(1), 145.
<https://doi.org/10.4103/2277-9175.135163>
- Rothschild, J., Hoddy, K. K., Jambazian, P., Varady, K. A. (2014). Time-restricted feeding and risk of metabolic disease: a review of human and animal studies. *Nutrition Reviews*, 72(5), 308–318. <https://doi.org/10.1111/NURE.12104>

- Sadler, T. W. (2005). Embryology of neural tube development. *American Journal of Medical Genetics Part C: Seminars in Medical Genetics*, 135C(1), 2–8.
<https://doi.org/10.1002/AJMG.C.30049>
- Shaw, J. E., Sicree, R. A., Zimmet, P. Z. (2010). Global estimates of the prevalence of diabetes for 2010 and 2030. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 87(1), 4–14.
<https://doi.org/10.1016/J.DIABRES.2009.10.007>
- Soeters, M. R., Soeters, P. B., Schooneman, M. G., Houten, S. M., Romijn, J. A. (2012). Adaptive reciprocity of lipid and glucose metabolism in human short-term starvation. *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism*, 303(12).
<https://doi.org/10.1152/AJPENDO.00397.2012>
- Sutton, E. F., Beyl, R., Early, K. S., Cefalu, W. T., Ravussin, E., Peterson, C. M. (2018). Early Time-Restricted Feeding Improves Insulin Sensitivity, Blood Pressure, and Oxidative Stress Even without Weight Loss in Men with Prediabetes. *Cell Metabolism*, 27(6), 1212-1221.e3. <https://doi.org/10.1016/J.CMET.2018.04.010>
- Teng, B. S., Wang, C. D., Yang, H. J., Wu, J. S., Zhang, D., Zheng, M., Fan, Z. H., Pan, D., Zhou, P. (2011). A protein tyrosine phosphatase 1B activity inhibitor from the fruiting bodies of *Ganoderma lucidum* (Fr.) Karst and its hypoglycemic potency on streptozotocin-induced type 2 diabetic mice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(12), 6492–6500. <https://doi.org/10.1021/JF200527Y>
- Trepanowski, J. F., Canale, R. E., Marshall, K. E., Kabir, M. M., Bloomer, R. J. (2011). Impact of caloric and dietary restriction regimens on markers of health and longevity in humans and animals: A summary of available findings. *Nutrition Journal*, 10(1), 1–13.
<https://doi.org/10.1186/1475-2891-10-107/PEER-REVIEW>
- Vaidya, V., Gangan, N., Sheehan, J. (2015). Impact of cardiovascular complications among patients with Type 2 diabetes mellitus: a systematic review. *Expert Review of Pharmacoeconomics & Outcomes Research*, 15(3), 487–497.
<https://doi.org/10.1586/14737167.2015.1024661>

Varady, K. A., Bhutani, S., Church, E. C., Klempel, M. C. (2009). Short-term modified alternate-day fasting: a novel dietary strategy for weight loss and cardioprotection in obese adults. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 90(5), 1138–1143. <https://doi.org/10.3945/AJCN.2009.28380>

Vural, H., Sabuncu, T., Oktay Arslan, S., Aksoy, N. (2001). Melatonin inhibits lipid peroxidation and stimulates the antioxidant status of diabetic rats. *Journal of Pineal Research*, 31(3), 193–198. <https://doi.org/10.1034/J.1600-079X.2001.310301.X>

Zimmet, P., Alberti, K. G., Magliano, D. J., Bennett, P. H. (2016). Diabetes mellitus statistics on prevalence and mortality: facts and fallacies. *Nature Reviews. Endocrinology*, 12(10), 616–622. <https://doi.org/10.1038/NREND0.2016.105>

EKLER

Ek 1 (ADÜ-HADYEK)



T.C.
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU
(AYDIN ADÜ-HADYEK)



Aydın, 22/04/2021

Oturum : Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 2021 Yılı IV. Oturum
Sayı : 64583101/2021/057
Proje Başlığı : Aralıklı açlık ve kalori kısıtlamasının streptozotosin ile indüklenmiş diyabetik farelerde testis hasarı üzerine etkisi
Proje Yürütücüsü : Kadri Murat GÜRSES
Proje Ekibi : Rukiye Feyza SUBAŞI

Bu çalışmanın hiçbir bölümünde:

İnsan embriyosu ve fötüsü kullanılması
İnsan embriyosu ve fötüsü dokularının kullanılması
Diğer insan doku ve hücrelerinin kullanılması

Hayvan Çalışması
İnsanlarda araştırma
İnsan olmayan primatların kullanılması
Transgenik hayvanların kullanılması
Hayvanlarda genetik modifikasyon öngörülmemiştir.

Bu çalışmanın yapılmasında etik açıdan bir sakınca bulunmamaktadır.


Prof. Dr. Murat SARIERLER
Başkan


Prof. Dr. M. Dinçer BILGIN
Başkan Yardımcısı


Prof. Dr. Furhan DOST
Üye


Prof. Dr. Işıl SÖNMEZ
Üye



Doç. Dr. Serkan BAKIRCI
Üye



Dr. Öğr. Üyesi Solmaz KARAARSLAN
Üye



Dr. Öğr. Üyesi A. Önder ÜSTÜNDAĞ
Üye


Dr. Öğr. Üyesi Aysun KOÇ
Üye


Vet. Hek. Dr. Serdar AKTAŞ
Sor. Vet. Hek.
Üye


Hidayet YAMAN
Serbest Vet. Hek. Üye


Öğr. Gör. Dr. Asude Gülce GÜLER
Sor. Vet. Hek.
Üye


(Toplantıya Katılmadı)
Mustafa ÇOBANOĞLU
Sivil Üye

(Toplantıya Katılmadı)
Şenay TEKİNBAŞ
HAYTAP Üye.

Bu rapor, sadece Adnan Menderes Üniversitesi'nde yapılacak çalışmalar için geçerlidir.

T.C.
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİLİMSEL ETİK BEYANI

“Aralıklı Açlık Beslenme Yaklaşımının Streptozotosin İle Oluşturulmuş Diyabetik Fare Modelinde Testis Hasarı Üzerine Etkisi” başlıklı Yüksek Lisans tezindeki bütün bilgileri etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada, bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiz atıf yaptığımı bildiririm. İfade ettiklerimin aksi ortaya çıktığında ise her türlü yasal sonucu kabul ettiğimi beyan ederim.

Rukiye Feyza SUBAŞI

25 / 01 / 2022

ÖZ GEÇMİŞ

Soyadı, Adı : SUBAŞI, Rukiye Feyza
Uyruk : T.C.
Doğum yeri ve tarihi : Denizli / 10.01.1995
Telefon : 0 5543190106
E-posta : rukiye.feyza.subas.2020@gmail.com
Yabancı dil : İngilizce

EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet tarihi
Y. Lisans	ADÜ – Histoloji ve Embriyoloji ABD	2022
Lisans	ADÜ - Beslenme ve Diyetetik	2018