



T.C.  
ERCİYES ÜNİVERSİTESİ  
BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJELER  
KOORDİNASYON BİRİMİ

## PROJE BAŞLIĞI

Taksan Grubu Kemoterapötiklerin Oluşturduğu Testis ve Sperm Hasarı, Testosteron Düzeyindeki Değişiklikler, DNA Fragmentasyonu ve Lipid Peroksidasyonu Üzerine Tarçın Yağının Muhtemel Koruyucu Etkilerinin Araştırılması

**Proje No:** TCD 2013-4247

Proje Türü  
Çok Disiplinli Araştırma

### SONUÇ RAPORU

**Proje Yürütücüsü:**  
Adı Soyadı  
Birimi/Bölümü

Doç.Dr.Serpil Sarıözkan

Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Dölerme ve Suni Tohumlama ABD

**Araştırmacının Adı Soyadı**  
**Birimi/Bölümü**

Prof.Dr. Gaffari Türk: Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Dölerme ve Suni Tohumlama ABD  
Prof.Dr. Saim Özdamar: Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi/Temel Tıp bilimleri  
Doç. Dr. Abdurrauf YÜCE: Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Fizyoloji ABD.  
Ör. Gör. Dr. Arzu YAY: Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji- Embriyoloji ABD.  
Araşt. Gör. Fazile CANTÜRK: Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyofizik ABD.

TEMMUZ 2015



Bu alı ma Erciyes Üniversitesi BAP birimi tarafından desteklenmi tir.

## Ç İNDEK İLER

	Sayfa No
ÖZET	5
ABSTRACT	6
1. GİRİŞ	7
2. Materyal-Metot	8
3. Bulgular	12
4. Tartışma	27
5. Kaynaklar	30
6. Ekil açıklamaları	34

## ÖZET:

Bu proje, paklitaksel ve dosetaksel gibi taksan grubu kemoterapötiklerin yeti kin erkek sıçanlarda, testislerin histolojik yapısı, sperm kalite parametreleri, testiküler ve epididimal doku lipid peroksidasyonu, antioksidan enzim aktivitesi, testis ve spermatozoon DNA'sında meydana getirebilece i muhtemel yapısal ve fonksiyonel de i imleri belirlemek ve bu de i imler üzerine güçlü bir antioksidan olan tarçın ya ının koruyucu etkilerinin olup olmadı nı ara tırmak amacıyla yapılacaktır.

Taksan sınıfı bile ikler (dosetaksel, paklitaksel) son yılların en önemli kanser kemoterapotiklerindedir. Her iki madde de benzer etki mekanizmasına sahiptir ve çok çe itli kanser tipine (prostat, meme, ovaryum, akci er) kar ı kullanılan geni spektrumlu antitümör aktiviteye sahip ajanlardır. Kemoterapotikler, güçlü antitümör aktivitelerine ra men pek çok sisteme oldu u gibi reproduktif sistem üzerine de toksik etkilidir. Testisler terapotik ajanların hedef organıdır ve kullanımları spermatogenezisi olumsuz etkilemektedir. Germ hücre apoptozisinde artı , reproduktif organ a ırlı nda azalmalar, seminifer tubullerde atrofi ve spermatogenik hücrelerde dejenerasyonlara yol açtıkları pek çok çalı mada bildirilmi tir. Ayrıca, oksidatif strese kar ı savunma mekanizmasını bozdu u ve oksidatif strese ba lı olarak olu an serbest radikallerin testiküler germ hücre apoptozisini uyardı ı bildirilmi tir.

Kemoterapotiklerin, testisler ve spermatozoa üzerinde olu turaca ı hasarların önlenmesinde günümüzde pek çok serbest radikal temizleyicisi ve antioksidan ajan kullanılmaktadır. Ancak, tarçın ya ının taksan grubu kemoterapötiklerle tedavi sonrası olu an testis ve spermatozoa hasarı üzerindeki etkilerine dair herhangi bilimsel bir çalı ma bulunmamaktadır. Bu durum, konuyu ara tırmaya de er kılmakta olup çalı madan elde edilecek sonuçlar konuyla ilgili ilk sonuçlar olacaktır.

Bu çalı mada 88 adet yeti kin Wistar Albino erkek rat e it ekilde 8 gruba ayrılacaktır. Gruplar;

1. *Kontrol grubu*; haftada bir gün intraperitoneal serum fizyolojik ve günlük a ızdan mısır ya ı verilecektir.
2. *Tarçın ya ı grubu*; haftada bir gün intraperitoneal serum fizyolojik ve günlük a ızdan 100 mg/kg tarçın ya ı verilecektir.
3. *Paklitaksel grubu*; haftada bir gün intraperitoneal 4 mg/kg paklitaksel ve günlük a ızdan mısır ya ı verilecektir.
4. *Dosetaksel grubu*; haftada bir gün intraperitoneal 5 mg/kg dosetaksel ve günlük a ızdan mısır ya ı verilecektir.
5. *Paklitaksel+Dosetaksel grubu*; ilk 5 hafta boyunca haftada bir gün intraperitoneal 4 mg/kg paklitaksel + sonraki 5 hafta boyunca haftada bir gün 5 mg/kg dosetaksel ve günlük a ızdan mısır ya ı verilecektir.
6. *Paklitaksel+Tarçın ya ı grubu*; haftada bir gün intraperitoneal 4 mg/kg paklitaksel ve günlük a ızdan 100 mg/kg tarçın ya ı verilecektir.
7. *Dosetaksel+Tarçın ya ı grubu*; haftada bir gün intraperitoneal 5 mg/kg dosetaksel ve günlük a ızdan 100 mg/kg tarçın ya ı verilecektir.
8. *Paklitaksel+Dosetaksel+Tarçın ya ı grubu*; ilk 5 hafta boyunca haftada bir gün intraperitoneal 4 mg/kg paklitaksel + sonraki 5 hafta boyunca haftada bir gün 5 mg/kg dosetaksel ve günlük a ızdan 100 mg/kg tarçın ya ı verilecektir. Tüm gruplara 10 haftalık kronik uygulama yapılacaktır.

Anahtar Sözcükler: Apoptozis, tarçın ya ı, oksidatif stres, sperm DNA hasarı, sperm parametreleri, taksanlar

## ABSTRACT

The aim of this study was to investigate the possible protective effects of cinnamon bark oil on testes histopathological changes, semen quality parameters, lipid peroxidation, antioxidant enzyme activity, DNA structures of testes and spermatozoa induced by using docetaxel and paclitaxel in rats.

Currently, the compounds of taxane class (docetaxel, paclitaxel) is one of the most important cancer chemotherapeutics. Both materials have a similar mechanism of action and have broad spectrum antitumor activity of agents to be used in the treatment of a wide variety of cancer types (prostate, breast, ovary, lung). Chemotherapeutics, despite their strong antitumor activities, have also toxic effects on the reproductive system as in many systems. The testes are the target organs of therapeutic agents and the use of them adversely affect spermatogenesis. It has been reported in many studies that chemotherapeutics lead to an increase in germ cell apoptosis, decreases in reproductive organ weights, atrophy in seminiferous tubules and degeneration in germ cells. Also, it has been reported that chemotherapeutics impair defense mechanisms against oxidative stress and increased free radicals induce testicular germ cell apoptosis.

Nowadays, many free radical scavengers and antioxidant agents have been used in order to prevent damages in testes and spermatozoa induced by chemotherapeutics. However, there are no studies about the effects of cinnamon bark oil (CBO) on in testicular and spermatozoal damages induced by treatment of taxane-based chemotherapeutics. This situation makes it worth to investigate the subject, and the results obtained from the study will be the first findings related to the subject.

In this study, 88 adult male Wistar albino rats will be divided into 8 equal groups. The groups will be created as **control** (once a week intraperitoneal saline, daily corn oil by gavage), **cinnamon bark oil** (once a week intraperitoneal saline and daily oral 100 mg / kg cinnamon bark oil), **paclitaxel** (once a week intraperitoneal injection of 4 mg / kg paclitaxel), **docetaxel** (once a week intraperitoneal injection of 5 mg / kg docetaxel), **Paclitaxel+Docetaxel** (First 5 weeks paclitaxel (once a week intraperitoneal injection of 4 mg / kg paclitaxel) +Second five weeks docetaxel (once a week intraperitoneal injection of 5 mg / kg docetaxel), **Paclitaxel + CBO** (once a week intraperitoneal injection of 4 mg / kg paclitaxel and daily oral 100 mg / kg CBO ), **Docetaxel + CBO** (once a week intraperitoneal injection of 5 mg / kg docetaxel and daily oral 100 mg / kg CBO), **Paclitaxel+Docetaxel+CBO**. Ten weeks chronic application (by considering the time of spermatogenesis and sperm transport through the epididymis in rats) will be made to all groups.

Key Words: Apoptosis, cinnamon bark oil, oxidative stress, sperm DNA damage, sperm parameters, taxanes.

## 1. Giri

Taksan sınıfı bile ikler (dosetaksel, paklitaksel) son yılların en önemli kanser kemoterapotiklerindedir. Dosetaksel klinik kullanımında sitotoksik ajanların taksan sınıfının ikinci üyesi olup çok çe itli kanser tipine (prostat, meme, ovaryum, akci er) kar ı kullanılan geni spektrumlu antitümör aktiviteye sahip bir ajandır (1, 2, 3,4, 5,6).

Kemoterapotikler, güçlü antitümör aktivitelerine ra men pek çok sisteme oldu u gibi reproduktif sistem üzerine de toksik etkilidir. Testisler terapötik ajanların hedef organıdır ve kullanımları spermatogenezisi olumsuz etkilemektedir (7). Spermatogenezis; germ hücre proliferasyonu, diferensiyasyonu ve testisten spermatozoanın bırakılmasını kapsayan genetik rekombinasyon ve mayozu içeren bir süreçtir. Spermatogenezis Sertoli hücreleri ile seminifer epitelyumdaki germ hücreleri arasındaki interaksiyonla kontrol edilir (8). Ergin erkeklerde normal spermatogenezis sürecinde germ hücre ölümleri sperm üretiminde önemli rol oynar. Potansiyel spermatozoanın yaklaşık %25-75 kadarı dejenere olmakta ve memeli testisinde ölmektedir (9, 10, 11). Testiküler germ hücrelerinde spermatogonial popülasyonu kontrol etmek amacıyla, seminifer epitelyumunda Sertoli hücreleri vasıtasıyla fizyolojik bir apoptozis gerçekleşmektedir. Spontane apoptozis sıçan testisinde seminifer epitelyumunda (12), spermatogoniada (13,14), spermatositlerde ve spermatidlerde (12,15) gözlenmiştir. Ancak kemoterapotiklerin kullanımında yan etki olarak germ hücre apoptozisinde bir artış oldu u bildirilmiştir (1, 7). Ayrıca reproduktif organ a ırlı nda azalmalar, seminifer tubullerde atrofi ve spermatogonik hücrelerde dejenerasyonlara yol açtıkları pek çok çalışmada bildirilmiştir (16, 17). Paklitaksel kullanımı sonrasında testis, epididimis ve prostat bezi a ırlı nda azalmalar, spermatozoa motilitesinde azalma ve anormal yapıda artış, Leydig hücreleri ile spermatidlerde dejenerasyonların oldu u bildirilmiştir (18). Taksan grubu (paklitaksel-dosetaksel kombinasyonu) kemoterapi uygulamalarının erken dönemlerinde önemli gonadal hasarın oldu u bildirilmiştir (19). Kemoterapotik ajanların testis dokusunda oksidatif strese kar ı savunma mekanizmasını bozdu u da bildirilmektedir (20, 17). Reaktif oksijen türleri (moleküler oksijen, süperoksit anyon, hidrojen peroksit ve hidroksil radikali) normalde testis kompartmanlarında üretilmekte ve hücresel kompartmanlarında özellikle mitokondrialarda antioksidan savunma sistemleri tarafından yok edilmektedir (21). Ancak, bu savunma sisteminin kullanılan kimyasallarla bozuldu u (17) ve hatta bu serbest radikallerin testiküler germ hücre apoptozisini uyardı ı bildirilmiştir (22).

Yapılan çalışmalarda spermiotoksik olmayan tarçın ya ının sperm motilitesi, sperm yoğunlu u, üreme organ a ırlıkları (23, 24), spermatogenezis süresince spermatogonia,

spermatozit, spermatid, Sertoli ve Leydig hücrelerinde artış (25) FSH, LH ve testosteron düzeylerinde önemli artışlara (26) neden oldu ve serbest radikalleri azalttı (27) bildirilmektedir.

Ayrıca, güçlü antioksidan özelliğe sahip olan tarçının CCl<sub>4</sub>'ün neden olduğu karaciğer hasarını lipid peroksidasyonu azaltarak ve enzimatik antioksidan aktivitesini artırarak önlediği bildirilmektedir (28).

## 2. Materyal-Metot

Ara tırmada 88 adet 8-10 haftalık, 200-250g ağırlıklarında Wistar erişkin sıçan kullanılacaktır. Hayvanlar çalışma süresi boyunca 12 saat aydınlık-12 saat karanlık, 24±3 °C sıcaklık ve %45-65 nemli ortamdaki bireysel kafeslerde barındırılacak ve aynı yemle ad libitum olarak beslenecektir. Hayvanlar her grupta 11 adet olacak şekilde ağırlıkta ve cinsiyetinde aynı olan 8 alt gruba ayrılacaktır;

1. *Kontrol grubu*; haftada bir gün intraperitoneal serum fizyolojik ve günlük ağızdan zeytinyağı verilecektir.
2. *Tarçın yağı grubu*; haftada bir gün intraperitoneal serum fizyolojik ve günlük ağızdan 100 mg/kg tarçın yağı verilecektir.
3. *Paklitaksel grubu*; haftada bir gün intraperitoneal 4 mg/kg paklitaksel ve günlük ağızdan zeytinyağı verilecektir.
4. *Dosetaksel grubu*; haftada bir gün intraperitoneal 5 mg/kg dosetaksel ve günlük ağızdan zeytinyağı verilecektir.
5. *Paklitaksel+Dosetaksel grubu*; ilk 5 hafta boyunca haftada bir gün intraperitoneal 4 mg/kg paklitaksel + sonraki 5 hafta boyunca haftada bir gün 5 mg/kg dosetaksel ve günlük ağızdan zeytinyağı verilecektir.
6. *Paklitaksel+Tarçın yağı grubu*; haftada bir gün intraperitoneal 4 mg/kg paklitaksel ve günlük ağızdan 100 mg/kg tarçın yağı verilecektir.
7. *Dosetaksel+Tarçın yağı grubu*; haftada bir gün intraperitoneal 5 mg/kg dosetaksel ve günlük ağızdan 100 mg/kg tarçın yağı verilecektir.
8. *Paklitaksel+Dosetaksel+Tarçın yağı grubu*; ilk 5 hafta boyunca haftada bir gün intraperitoneal 4 mg/kg paklitaksel + sonraki 5 hafta boyunca haftada bir gün 5 mg/kg dosetaksel ve günlük ağızdan 100 mg/kg tarçın yağı verilecektir.

Çalışmada kullanılacak paklitaksel (Persohn ve ark. 2005), dosetaksel (Marchettini ve ark. 2002) ve tarçın yağının (Yüce ve ark. 2012) dozları ile paklitaksel+dosetaksel



kombinasyonunun uygulama yöntemi (Otova ve ark. 2006) önceki çalışmalara istinaden belirlendi. Tüm gruplardaki uygulamalar 10 hafta boyunca devam edecektir. Sıçanlarda spermatogenesis 48-52 gün ve spermlerin epididimis boyunca taşınması en az 1 hafta sürdüğünden dolayı çalışmada kullanılacak ilaçların spermler üzerindeki maksimum etkisini görebilmek amacıyla 10 haftalık kronik bir uygulama süresi göz önünde bulunduruldu. Uygulama süresi boyunca hayvanlar haftalık olarak tartılacak, çalışma sonunda hayvanlarda ekillenebilecek canlı ağırlık farklılıkları tespit edilecektir.

## **1. Örnek toplama ve homojenizat hazırlama**

Uygulama süresinin sonunda tüm hayvanlara ketamin/ksilazin anestezisi uygulanacaktır. Ardından kan örnekleri ve testis, vezikula seminalis ile ventral prostat gibi üreme organları dâhri olarak alınıp ya dokularından arındırıldıktan sonra tartılacaktır. Absolut ve rölatif üreme organ ağırlıkları tespit edilecektir. Kan örnekleri santrifüj edilip serumları testosteron tayinine kadar  $-20^{\circ}\text{C}$ 'da saklanacaktır. Testislerden biri histopatolojik muayene için Bouin solüsyonunda tespit edilirken diğere testis ise doku biyokimyasal analizleri için  $-20^{\circ}\text{C}$ 'deki derin dondurucuda saklanacaktır. Benzer şekilde sağ epididimisler sperm sayısının tespiti amacıyla kullanılacak, sol epididimisler ise motilite ve anormalite tayini için yaklaşık  $10\mu\text{l}$  kadar sperm bütürü ile kaudadan alındıktan sonra doku biyokimyasal analizleri için derin dondurucuda saklanacaktır. Derin dondurucudan çıkarılan testis ve epididimis örnekleri soğuk cam tüplere alınacak ve homojenizasyon için 1/9 oranında PBS (pH 7.4) ile sulandırılacaktır. Enzimatik analizler için dokular bir cam üzerinde iyice parçalanacak ve soğuk serum fizyolojik içerisinde 3 dakika boyunca cam-cam homojenizatör ile homojenize edilecektir (Türk ve ark. 2010).

## **2. Biyokimyasal analizler**

### **2.1. Total testosteron tayini**

Ticari testosteron kitleri kullanılarak kan serumunda total testosteron hormon düzeyleri Chemiluminescence metoduyla tespit edilecektir.

### **2.2. Testis ve epididimal doku lipid peroksidasyon ve antioksidan tayini**

Doku lipid peroksidasyon düzeyi tiyobarbitürik asit reaktif substant (TBARs) konsantrasyonuna göre belirlenecek ve üretilen malondialdehit (MDA) lipid peroksidasyon göstergesi olarak kullanılacaktır.  $532\text{ nm}$ 'de spektrofotometrik olarak ölçülen MDA düzeyi  $\text{nmol/g}$  protein (Placer ve ark. 1966) olarak ifade edilecektir.

Doku glutasyon (GSH) düzeyi Sedlak ve Lindsay (1968) tarafından belirtilen metoda istinaden tayin edilecek ve  $412\text{ nm}$ 'de spektrofotometrik olarak ölçülen GSH düzeyleri  $\text{nmol/g}$  protein olarak ifade edilecektir. Doku glutasyon-peroksidaz (GSH-Px) aktivitesi

Lawrence ve Burk (1976)'un belirtmi oldu u metoda göre tespit edilecek ve 340 nm'de spektrofotometrik olarak ölçülen GSH-Px aktivitesi IU/g protein olarak ifade edilecektir. Doku katalaz aktivitesi Aebi (1983)'nin metodu kullanılarak hidrojen peroksitin ayrı ma prensibine dayanarak tespit edilecek ve 240 nm'de spektrofotometrik olarak ölçülen katalaz aktivitesi k/g protein olarak ifade edilecektir. Doku protein düzeyi Lowry (1951)'nin yöntemine göre tespit edilecektir.

### **3. Spermatojik muayeneler**

#### **3.1. Sperm Yo unlu u**

Sa kauda epididimis Petri kutusu içerisindeki 1 ml fizyolojik tuzlu suda (%0.9'luk NaCl) bistüri ve makas yardımıyla iyice parçalanarak 2 dakika boyunca bir pensle parçacıklar iyice ezilecektir. Sonra epididimal dokudaki bütün spermatozoonların sıvıya geçmesi için oda sıcaklı ında 4 saat inkubasyona bırakılacaktır. Bekleme süresini takiben spermatozoon ihtiva eden süpernatant alyuvar pipetinin 0.5 çizgisine kadar, 5 g sodyum bikarbonat, 1 ml formalin, 25 mg eozin ve 100 ml distile su içeren solüsyon da 101 çizgisine kadar çekilecektir. Dolayısıyla süpernatant 1:200 oranında sulandırılmı olacaktır. Yakla ık 10 µl sulandırılmı süpernatant önceden lamel yapı tırılmı Thoma lamının her iki sayım (toplam 400 küçük kare, 0.1 mm<sup>3</sup> hacim) alanına lamelin kenarına pipetin ucu de dirilerek yerle tirilecektir. Thoma lamı ık mikroskobuna bırakılıp 5 dakika beklenecek solüsyon içerisindeki spermatozoonların tüm alana homojen bir ekilde da ılması sa lanacaktır. Her iki sayım alanındaki tüm karelere dü en spermatozoonlar faz kontrast mikroskobunun 200'lük büyütmesinde sayılacak ve kauda epididimal dokudaki sperm yo unlu u hesaplanacaktır (Türk ve ark. 2007).

#### **3.2. Sperm Motilitesi**

Bunun için bir lam mikroskobun ısıtma tablasına yerle tirilerek sıcaklı ının 37 °C'ye ulaşması sa lanacaktır. Birkaç damla Tris buffer solüsyonu [Tris (hidroksimetil) aminometan 3.63 g, glukoz 0.50 g, sitrik asit 1.99 g ve distile su 100 ml] ısıtma tablası üzerindeki lama damlatıldıktan sonra sol kauda epididimisten kesit yapılarak alınan ve spermatozoon ihtiva eden küçük bir damla süspansiyon bu solüsyon üzerine yerle tirilip lamel yardımıyla karı tırılarak homojen bir hal alması sa lanacaktır. Daha sonra 400'lük büyütmede gözle motilite yüzdesi belirlenecektir. Motilite tahminleri sol kauda epididimisten alınan bir damla süspansiyon için 3 farklı saha incelenerek yapılacaktır. Bu 3 farklı sahanın ortalama de erleri yüzde motilite oranı olarak hesaplanacaktır (Sönmez ve ark. 2005)

#### **3.3. Anormal spermatozoon oranı**

Birkaç damla Tris buffer solüsyonu temiz, kuru ve önceden ısıtılmış (37 °C) bir lama damlatıldıktan sonra üzerine sol kauda epididimisten alınan küçük bir damla süspansiyon ve birkaç damla Eozin-Nigrozin (1.67 g eozin, 10 g nigrozin ve 2.9 g sodyum sitrat 100 ml distile su için) karışımı boya damlatılarak bir lam yardımıyla karıştırılıp homojen hale getirilecektir. Daha sonra bu Tris-spermatozoon süspansiyonu-boya karışımından ince frotiller çekilerek çok kısa sürede kuruması sağlanacaktır. Kurutma işleminden sonra frotiller faz kontrast mikroskopunun 400'lük büyütmesinde incelenecektir. Bir frotide toplam 300 spermatozoon incelenip baş, kuyruk ve toplam anormal spermatozoon oranı yüzde olarak ifade edilecektir (Türk ve ark. 2007).

#### **4. Histopatolojik muayeneler**

Testis doku örnekleri Bouin solüsyonunda tespit edilecektir. Dokular alkol serisinden geçirilip parafinle bloklanarak uygun ekilde kesildikten sonra hematoksilen eozin ile boyanacaktır. Testis kesitlerinde tubulus seminiferus kontortusların çapı ile germinal hücre tabakası kalınlıkları ölçülecektir.

#### **5. DNA hasarının değerlendirilmesi**

##### **5.1. COMET**

Sulandırılmış sperma örnekleri 300 µl de 4°C da 10 dakika santrifüj edilecektir. Süpernatant kısmı atılacak, 1000 µl PBS eklenip, vortekslenecektir. Ardından 300 µl de 4°C da 10 dakika santrifüj edilerek bu ekilde hücreler iki kez yıkanacaktır. Süpernatant kısmı atılıp, 1000 µl PBS eklenecek ve vortekslenecektir. 10 µl hücre süspansiyonu 100 µl % 0,7 lik düşük erime noktalı agaroz ile süspansiyon edilecek, %1' lik normal erime noktalı agaroz ile kaplanacak lamalara yayılıp, üzerleri lamelle kapatılacak ve 15 dakika buz üzerinde donmaya bırakılacaktır. Süre sonunda lameller kaldırılıp, lamalar taze hazırlanmış lizis çözeltisinde (2,5 M NaCl, 100 mM Na<sub>2</sub>-EDTA, 10 mM Tris, %1 Triton X-100, %10 DMSO ve 40 mM DTT, pH:10) 4°C' de 1 saat lize edilecektir. Stok çözeltisine 100 µl/ml proteinase-K eklenerek bir gece 37°C da lamalar lize edilecektir. Lize işleminden sonra lamalar elektroforez tamponuyla (300 mM NaOH, 1 mM EDTA, pH:13) 20 dakika DNA sarmalının açılması için yıkanıp, yatay comet elektroforez tankında 20 dakika 12 V-250 mA'de koşturulacaktır. Nötralizasyon çözeltisiyle (40 mM Tris- HCl, pH:7,4) 20 dakika nötrale edilip, 2 saat kurutma işleminden sonra 50 µl etidyum bromürle (1 µg/ml) boyanıp floresan mikroskopla görüntülenecektir. Her bir lamadan rastgele seçilmiş 100 hücre analiz edilecektir. Her bir görüntüde, DNA hasarı, spermatozoon başından migrate olan hasarlı DNA kuyruk yapısı (comet yapısı) ya da tüm spermatozoon başı görüntüsü (comet yapısız) comet assay programında değerlendirilip,

skorlaması yapılarak analiz edilecektir (Haines ve ark. 1998; Singh ve Stephens 1998; Hong ve ark. 2008).

## **5.2. TUNEL**

Testis doku kesitlerinde apoptotik hücrelerdeki DNA sarmal kırıklarının in situ saptanmasında en duyarlı ve en hızlı metot olan TUNEL i aretleme yöntemi kullanılacaktır. Özetle, hazırlanan parafin bloklardan mikrotom yardımı ile 5 mikron kalınlığında alınan kesitler polilizinli lamlara alınacaktır. Kesitler ksilen ile deparafinize ve alkol ile rehidrate edildikten sonra PBS ile yıkanır. Antijen retrieval için 5 dakika 95°C’de mikrodalgada citrat buffer uygulanan kesitler PBS ile yıkandıktan sonra kitte (In Situ Cell Death Detection Kit) bulunan boyama metoduna uygun olarak boyama yapılacaktır. Boyamada kromojen olarak Fast-Red kullanıldıktan sonra, preparatlar PBS ile yıkanıp, Mayer hematoksilen ile zıt boyama yapılacaktır. Boyama sonrası distile su ile yıkanan kesitler, kapatma solüsyonu ile kapatılır. TUNEL yöntemi ile belirlenen, TUNEL pozitif apoptotik hücreler analiz için 10 mikroskopu altında incelenir. Her bir rata ait testis dokusunda interstisyel alanlardaki ve tubulus seminiferuslardaki apoptotik hücreler de erlendirilmeye alınacaktır. Apoptozis de erlendirilmesinde ara tırıcılarca (Yin ve ark., 1998) bildirilen yöntem uygun olarak; hazırlanmış olan her bir testis preparatında üç veya daha fazla apoptotik hücre içeren 10 adet tubulus seminiferustaki germ hücresi sayılarak (40x objektif) bunlar arasında apoptotik pozitif hücrelerin istatistiksel olarak de erlendirilmesi yapılacaktır.

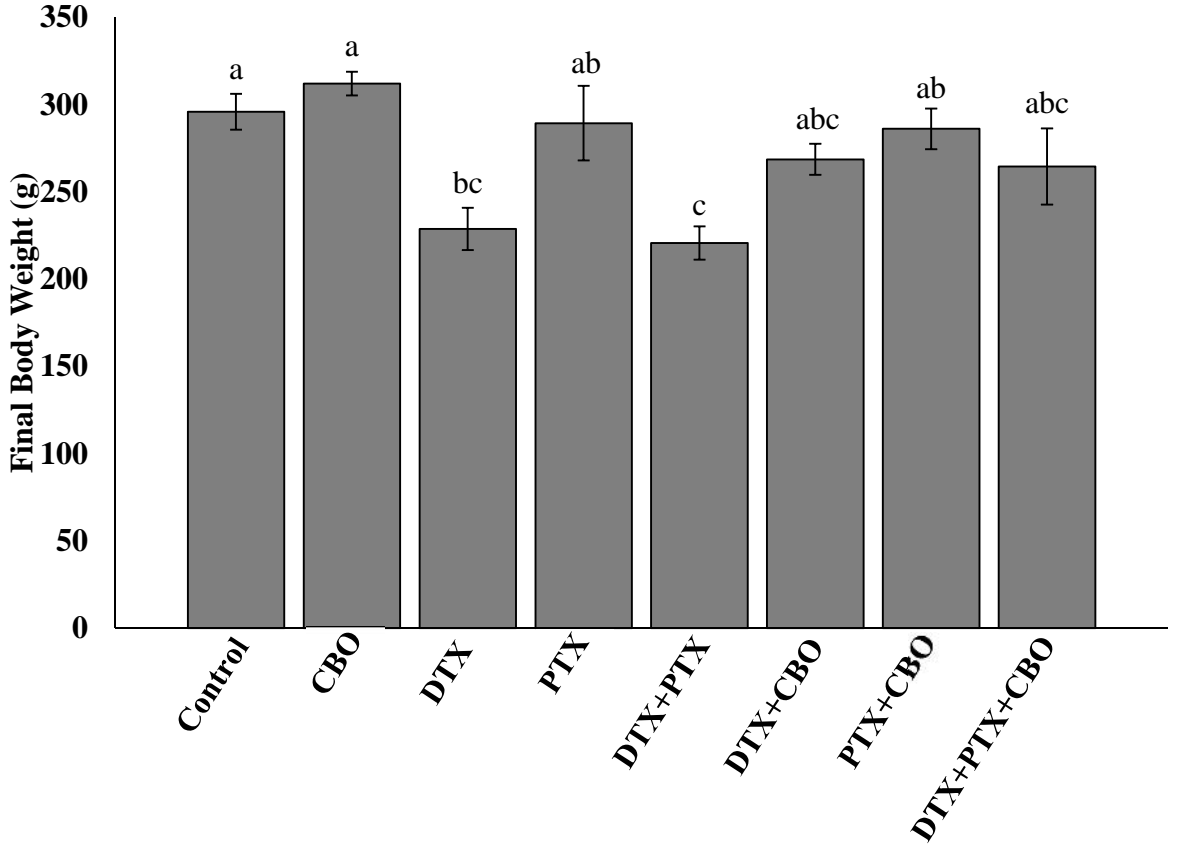
## **6. statistiki analizler**

Tüm analizlerden elde edilecek ham de erler grup ortalaması  $\pm$  standart hata ekinde sunulacaktır. Elde edilecek veriler SPSS paket programı kullanılarak öncelikle normallik analizi yapılacaktır. De erler normal da ılım gösterirse grupların kar ıla tırılması amacıyla parametrik tek yönlü varyans analizi ve ikili kar ıla tırmalar için Tukey-HSD testi kullanılacaktır. De erler normal da ılım göstermezse non-parametrik Kruskal-Wallis testi kullanılacaktır.

## **3. Bulgular**

### **3.1. Vücut ve reproduktif organ a ırlıklarındaki de i imler**

DTX ve DTX+PTX miks kullanımı final vücut a ırlığı üzerine, kontrol grubu ile kar ıla tırıldı ında önemli derecede dü ü e sebep oldu ( $P<0.001$ ). Kemoterapi uygulanan gruplara tarçın ya ı kullanımı ise DTX ve miks gruplarda kontrol grubuna yakın bir de er vermi tir ( ekil 1).



ekil 1. Final vücut a ırlı 1

Gerçek ve göreceli reproductif organ a ırlıkları Tablo 1 ve 2 de sırasıyla gösterilmi tir. Kontrol grubuyla kar ıla tırıldı ında, kemoterapi uygulanan gruplarda gerçek organ a ırlıkları açısından önemli derecede dü ü ler saptanmı tır ( $P<0.001$ ). Gerçek organ a ırlı ında en dü ü k de erler DTX+PTX grubundan alınmı tır. Ancak, kemoterapi ile birlikte tarçın ya ı kullanımı; sadece kemoterapi uygulanan grupla kıyaslandı ında epididymis, sa cauda epididymis, seminal vezikül, ve ventral prostat için gerçek organ a ırlıklarında önemli derecede ilerlemeye sebep olmu tur ( $P<0.001$ ). DTX ve DTX+PTX grupları göreceli organ a ırlıkları ve epididimiste önemli derecede azalmalara sebep olmu tur ( $P<0.001$ ), sadece DTX+PTX kullanımı seminal vezikülün göreceli a ırlı ında önemli derecede dü ü e sebep olmu tur ( $P<0.001$ ), ve tüm kemoterapötik uygulamaları, kontrol grubuyla kar ıla tırıldı ında cauda epididymis ve ventral prostatın göreceli a ırlı ında önemli derecede dü ü e sebep olmu tur ( $P<0.001$ ). Ancak tarçın ya ı tüketimi (kemoterapi uygulanan gruplarda) göreceli organ a ırlıklarında iyile me sa lamı tır ( $P<0.001$ ). Göreceli organ a ırlıklarıyla ilgili

de erler DTX+CBO, PTX+CBO ve DTX+PTX+CBO gruplarında tarçın ya ının olumlu etkisine ba lı olarak control grubuna yakın bir de er vermi tir.

**Tablo 1.** Çe itli uygulamalara cevap gerçek organ a ırlı ındaki de i imler.

Gruplar	Gerçek reproductif organ a ırlıkları (g)				
	Testis (Sa +Sol/2)	Epididymis (Sa +Sol/2)	Sa cauda epididymis	Seminal vesicles	Ventral prostate
Kontrol	1.263±0.008 <sup>ab</sup>	0.514±0.007 <sup>a</sup>	0.186±0.003 <sup>ab</sup>	1.126±0.052 <sup>a</sup>	0.550±0.019 <sup>ab</sup>
CBO	1.296±0.007 <sup>a</sup>	0.547±0.013 <sup>a</sup>	0.211±0.012 <sup>a</sup>	1.247±0.061 <sup>a</sup>	0.587±0.030 <sup>a</sup>
DTX	0.706±0.054 <sup>ef</sup>	0.307±0.012 <sup>c</sup>	0.113±0.005 <sup>c</sup>	0.657±0.027 <sup>de</sup>	0.283±0.029 <sup>e</sup>
PTX	0.980±0.035 <sup>cd</sup>	0.423±0.007 <sup>b</sup>	0.116±0.009 <sup>c</sup>	0.821±0.026 <sup>cd</sup>	0.339±0.010 <sup>de</sup>
DTX+PTX	0.623±0.051 <sup>f</sup>	0.297±0.015 <sup>c</sup>	0.097±0.007 <sup>c</sup>	0.619±0.053 <sup>e</sup>	0.266±0.019 <sup>e</sup>
DTX+CBO	0.933±0.029 <sup>cd</sup>	0.379±0.025 <sup>b</sup>	0.151±0.012 <sup>b</sup>	0.929±0.035 <sup>bc</sup>	0.393±0.018 <sup>cd</sup>
PTX+CBO	1.095±0.047 <sup>bc</sup>	0.486±0.016 <sup>a</sup>	0.166±0.006 <sup>b</sup>	1.069±0.041 <sup>ab</sup>	0.509±0.029 <sup>ab</sup>
DTX+PTX+CBO	0.829±0.037 <sup>de</sup>	0.420±0.009 <sup>b</sup>	0.170±0.003 <sup>b</sup>	0.825±0.032 <sup>cd</sup>	0.466±0.017 <sup>bc</sup>
Önem	P<0.001	P<0.001	P<0.001	P<0.001	P<0.001

-CBO: Cinnamon Bark Oil, DTX: Docetaxel, PTX: Paclitaxel.

-Data are expressed as mean±S.E.M.

-Different superscript letters (a, b, c, d, e, f) within the same column show significant differences between the groups (P<0.001).

**Tablo 2.** Çe itli uygulamalara cevap reproduktif organ a ırlı ındaki de i imler.

Gruplar	Göreceli reproduktif organ a ırlıkları [Gerçek organ a ırlı ı (g) / Final vücut a ırlı ı (g) X 100]				
	Testis (Sa +Sol/2)	Epididymis (Sa +Sol/2)	Sa cauda epididymis	Seminal vesicles	Ventral prostate
Kontrol	0.430±0.017 <sup>a</sup>	0.175±0.007 <sup>a</sup>	0.063±0.002 <sup>a</sup>	0.381±0.014 <sup>ab</sup>	0.187±0.009 <sup>a</sup>
CBO	0.416±0.007 <sup>a</sup>	0.176±0.005 <sup>a</sup>	0.068±0.004 <sup>a</sup>	0.401±0.022 <sup>a</sup>	0.189±0.012 <sup>a</sup>
DTX	0.308±0.020 <sup>bc</sup>	0.136±0.007 <sup>b</sup>	0.050±0.003 <sup>bc</sup>	0.293±0.019 <sup>bc</sup>	0.123±0.008 <sup>b</sup>
PTX	0.348±0.021 <sup>abc</sup>	0.152±0.011 <sup>ab</sup>	0.042±0.004 <sup>c</sup>	0.293±0.020 <sup>bc</sup>	0.122±0.010 <sup>b</sup>
DTX+PTX	0.282±0.019 <sup>c</sup>	0.135±0.007 <sup>b</sup>	0.044±0.003 <sup>c</sup>	0.279±0.018 <sup>ec</sup>	0.123±0.013 <sup>b</sup>
DTX+CBO	0.382±0.031 <sup>ab</sup>	0.155±0.007 <sup>ab</sup>	0.060±0.003 <sup>ab</sup>	0.377±0.031 <sup>ab</sup>	0.158±0.014 <sup>ab</sup>
PTX+CBO	0.385±0.016 <sup>ab</sup>	0.171±0.008 <sup>a</sup>	0.058±0.002 <sup>ab</sup>	0.378±0.021 <sup>ab</sup>	0.180±0.013 <sup>a</sup>
DTX+PTX+CBO	0.311±0.018 <sup>bc</sup>	0.158±0.005 <sup>ab</sup>	0.064±0.003 <sup>a</sup>	0.310±0.017 <sup>bc</sup>	0.175±0.008 <sup>a</sup>
Önem	P<0.001	P<0.001	P<0.001	P<0.001	P<0.001

-CBO: Cinnamon Bark Oil, DTX: Docetaxel, PTX: Paclitaxel.

-Data are expressed as mean±S.E.M.

-Different superscript letters (a, b, c, d, e) within the same column show significant differences between the groups (P<0.001).

### 3.2. Sperm parametrelerindeki de i imler

Çalı ma gruplarına ait spermatolojik parametreler Tablo 3 te gösterilmi tir. Motilite açısından kemoterapötik uygulanan gruplarda motilite oranları kontrol grubuyla kıyasla önemli derecede dü ük bulunmu tur. Tarçın ya ı ile birlikte kemoterapötik uygulanan grupların tümünde motilite oranı sadece kemoterapötik uygulanan gruplara ait motilite oranlarından önemli derecede yüksek bulunmu tur. Dosetaksel ve paklitaksel uygulanan grupta spermatozoa ba ve kuyruk anomali oranı kontrol grubuna kıyasla önemli derecede yüksek bulunmu tur. Dosetaksel ve paklitaksel ile birlikte tarçın ya ı uygulanan gruplarda spermatozoa ba ve kuyruk anomali oranı dosetaksel ve paklitaksel uygulanan gruplardaki

oranlardan önemli derecede düşük bulunmuştur. Ancak, Doksetaksel ve paklitakselin birlikte kullanıldığı gruptaki spermatozoa baş ve kuyruk anomali oranı bu kemoterapötiklerin tarçın yağı ile kullanıldığı gruptan farklı bulunmamıştır. Tarçın yağı ile birlikte doksetaksel, paklitaksel ve doksetaksel ile paklitakselin birlikte kullanıldığı gruplarda toplam anormal spermatozoa oranı bu kemoterapötiklerin yalnız kullanıldığı grupların oranlarından önemli derecede düşük bulunmuştur.

**Tablo 3.** Çeşitli uygulamalara karşı spermatolojik parametrelerdeki değişimler.

Gruplar	Sperm parametreleri				
	Motilite (%)	Yoğunluk (milyon/sa cauda epididymis)	Anormal sperm oranı (%)		
			Baş	Kuyruk	Toplam
Kontrol	77.62±1.40 <sup>a</sup>	118.28±5.95 <sup>a</sup>	3.86±0.74 <sup>f</sup>	3.29±0.42 <sup>e</sup>	7.15±0.77 <sup>f</sup>
CBO	88.09±0.68 <sup>a</sup>	135.14±3.86 <sup>a</sup>	3.43±0.57 <sup>f</sup>	2.86±0.40 <sup>e</sup>	6.29±0.78 <sup>f</sup>
DTX	17.14±3.89 <sup>de</sup>	50.86±1.25 <sup>cd</sup>	28.14±4.20 <sup>c</sup>	15.14±1.55 <sup>b</sup>	43.28±5.03 <sup>c</sup>
PTX	22.92±3.96 <sup>cde</sup>	47.76±1.97 <sup>d</sup>	22.25±1.25 <sup>cd</sup>	11.13±0.64 <sup>c</sup>	33.38±1.65 <sup>cd</sup>
DTX+PTX	11.66±0.82 <sup>e</sup>	42.58±0.71 <sup>cd</sup>	56.00±1.38 <sup>a</sup>	19.86±0.55 <sup>a</sup>	75.86±1.87 <sup>a</sup>
DTX+CBO	33.33±5.25 <sup>c</sup>	74.86±1.99 <sup>bc</sup>	15.86±0.63 <sup>de</sup>	8.71±0.42 <sup>cd</sup>	24.57±0.75 <sup>de</sup>
PTX+CBO	55.41±2.11 <sup>b</sup>	91.50±2.17 <sup>b</sup>	13.00±1.25 <sup>e</sup>	7.75±0.42 <sup>d</sup>	20.75±1.18 <sup>e</sup>
DTX+PTX+CBO	26.19±3.04 <sup>cd</sup>	66.58±1.09 <sup>bcd</sup>	43.71±2.93 <sup>b</sup>	17.43±0.95 <sup>ab</sup>	61.14±2.72 <sup>b</sup>
Önem	P<0.001	P<0.001	P<0.001	P<0.001	P<0.001

-CBO: Cinnamon Bark Oil, DTX: Docetaxel, PTX: Paclitaxel.

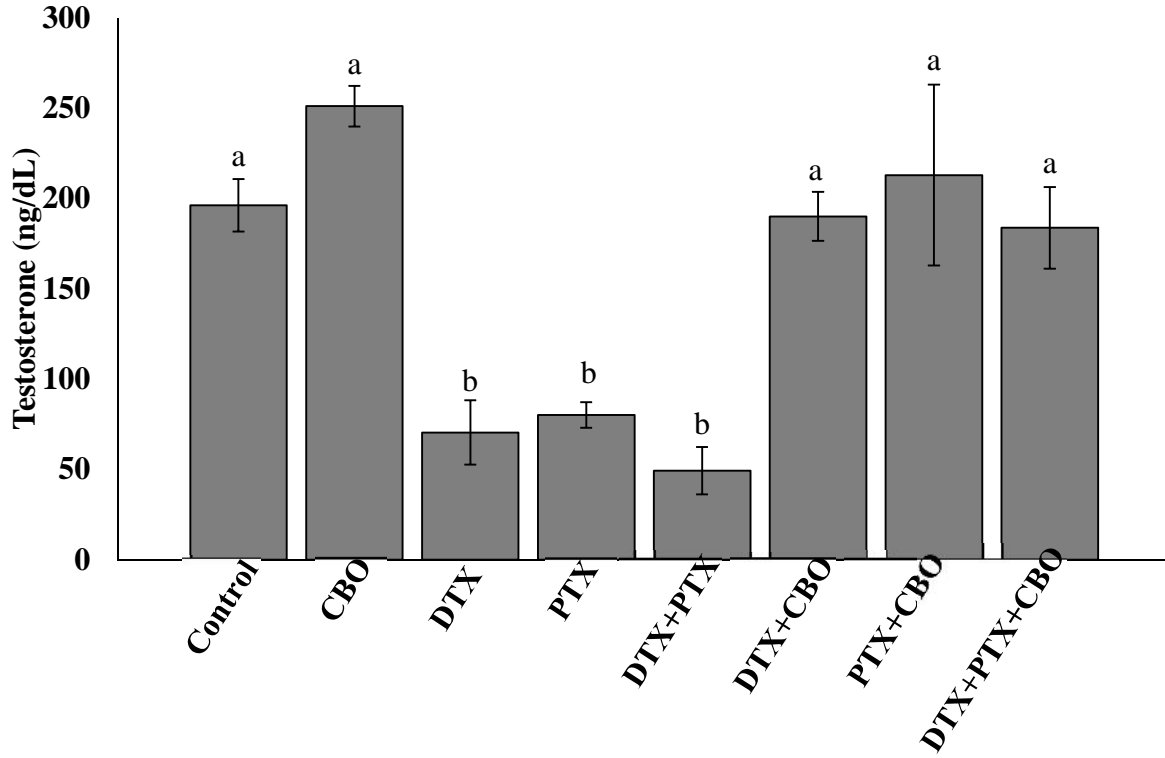
-Data are expressed as mean±S.E.M.

-Different superscript letters (a, b, c, d, e, f) within the same column show significant differences between the groups (P<0.001).



### 3.3. Testosteron düzeyindeki de i imler

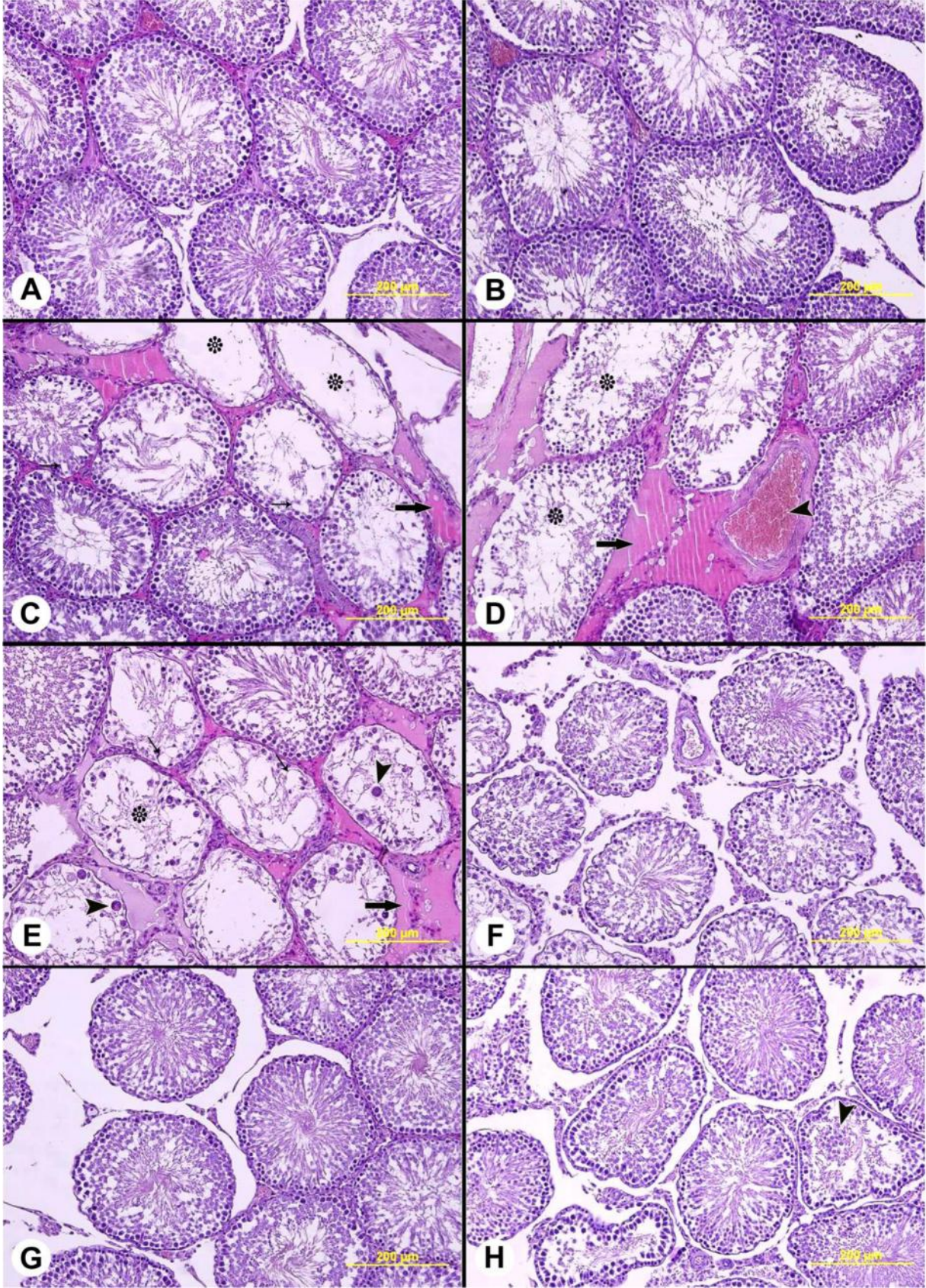
Serum testosteron düzeyleri ekil 2 de verilmi tir. DTX, PTX ve bunların miks kullanımı di er deney gruplarıyla kar ıla tırıldı ında testosteron düzeyinde önemli derecededü melere sebep olmu tur ( $P<0.001$ ). Tarçın ya ı kullanımı (kemoterapi uygulanan gruplarda) sadece kemoterapi uygulanan gruplarla kar ıla tırıldı ında testosteron düzeyini önemli derecede yükseltti i belirlendi ( $P<0.001$ ).



ekil 2. Testosteron hormon düzeyleri.

### **3.4. Testicular histopatolojik de i imler**

ekil 3 herbir grup için testislerdeki histopatolojik yapıyı göstermektedir. Kontrol grubunun kesiti ( ekil 3A) ve tarçın ya ı (CBO) ( ekil 3B) normal testicular yapı (normal germ hücre polarity ve düzenli seminiferous tubular morfoloji) göstermektedir. Germ hücreleri arasındaki sertoli hücreleri kontrol ve CBO gruplarında normal yapı gösterdiler. Ancak, ço u histopatolojik de i imler (degeneration, desquamation, disorganization in germinal cells, interstitial oedema, capillary congestion, multinucleated giant cell formation and haemorrhage) control grubuyla kar ıla tırıldıklarında DTX ( ekil 3C), PTX ( ekil 3D) ve DTX+PTX ( ekil 3E) grup kesitlerinden elde edildi. Spermatogenik gecikmeye ba lı olarak ço u seminiferous tubullarda (DTX, PTX ve DTX+PTX gruplarında) çok sayıda spermatogonia fakat az sayıda spermatosit ve spermatid bulundu. Kemoterapi uygulanan gruplarda bazı seminiferous tubules bo bulundu. Ayrıca, DTX, PTX ve DTX+PTX uygulamaları kontrol grubuyla kıyaslandı nda önemli derecede ( $P<0.001$ ) DST ve Johnsen's testicular scoring de erini dü ürdü (Tablo 4). Lezyonların ço unun sadece kemoterapi uygulanan gruplarda olmasına ragmen, CBO kullanımı DTX+CBO ( ekil 3F), PTX+CBO ( ekil 3G) ve DTX+PTX+CBO ( ekil 3H) gruplarında önemli derecede hasarı azaltmı tır.



*ekil 3. Testis dokusunda histopatolojik görüntüler*

### **3.5. Apoptotic germ hücreler ve sperm DNA yapısındaki değişimler**

Tüm gruplarda apoptotik germ hücreleri ve onların sayılarının görüntüsü ekil 4 ve Tablo 4de sırasıyla verilmiştir. Testis dokusunda TUNEL+ apoptotic germ hücre sayısında kontrol ( ekil 4A) ve CBO ( ekil 4B) gruplarında herhangi bir artış yoktur. DTX ( ekil 4C), PTX ( ekil 4D) ve DTX+PTX ( ekil 4E) gruplarında 20 seminiferous tubulleri içerisinde TUNEL+ apoptotic germ hücre sayıları istatistiki açıdan ( $P<0.001$ ) kontrol grubundan daha yüksek bulunmuştur (Tablo 4). Ancak DTX+CBO ( ekil 4F), PTX+CBO ( ekil 4G) ve DTX+PTX+CBO ( ekil 4H) gruplarında TUNEL+ apoptotic germ hücre sayıları yalnız kemoterapi uygulanan gruplarla karşılaştırıldığında önemli derecede ( $P<0.001$ ) düşük bulunmuştur.

Tüm gruplardaki kırılmış DNA ve sayıları ekil 5 ve Tablo 4 de sırasıyla verilmiştir. Sadece CBO ( ekil 5B) uygulaması kontrol grubuyla ( ekil 5A) karşılaştırıldığında ( $P<0.001$ ) sperm DNA fragmentasyonunu önemli derecede düşürdü. Sperm DNA fragmentasyonu higher in DTX ( ekil 5C), PTX ( ekil 5D) ve DTX+PTX ( ekil 5E) gruplarında kontrol grubundan daha yüksek bulundu ( $P<0.001$ ). Sperm DNA fragmentation DTX+CBO ( ekil 5F), PTX+CBO ( ekil 5G) and DTX+PTX+CBO ( ekil 5H) gruplarında sadece kemoterapi uygulanan gruplarla kıyaslandığında önemli derecede ( $P<0.001$ ) düşük bulundu.

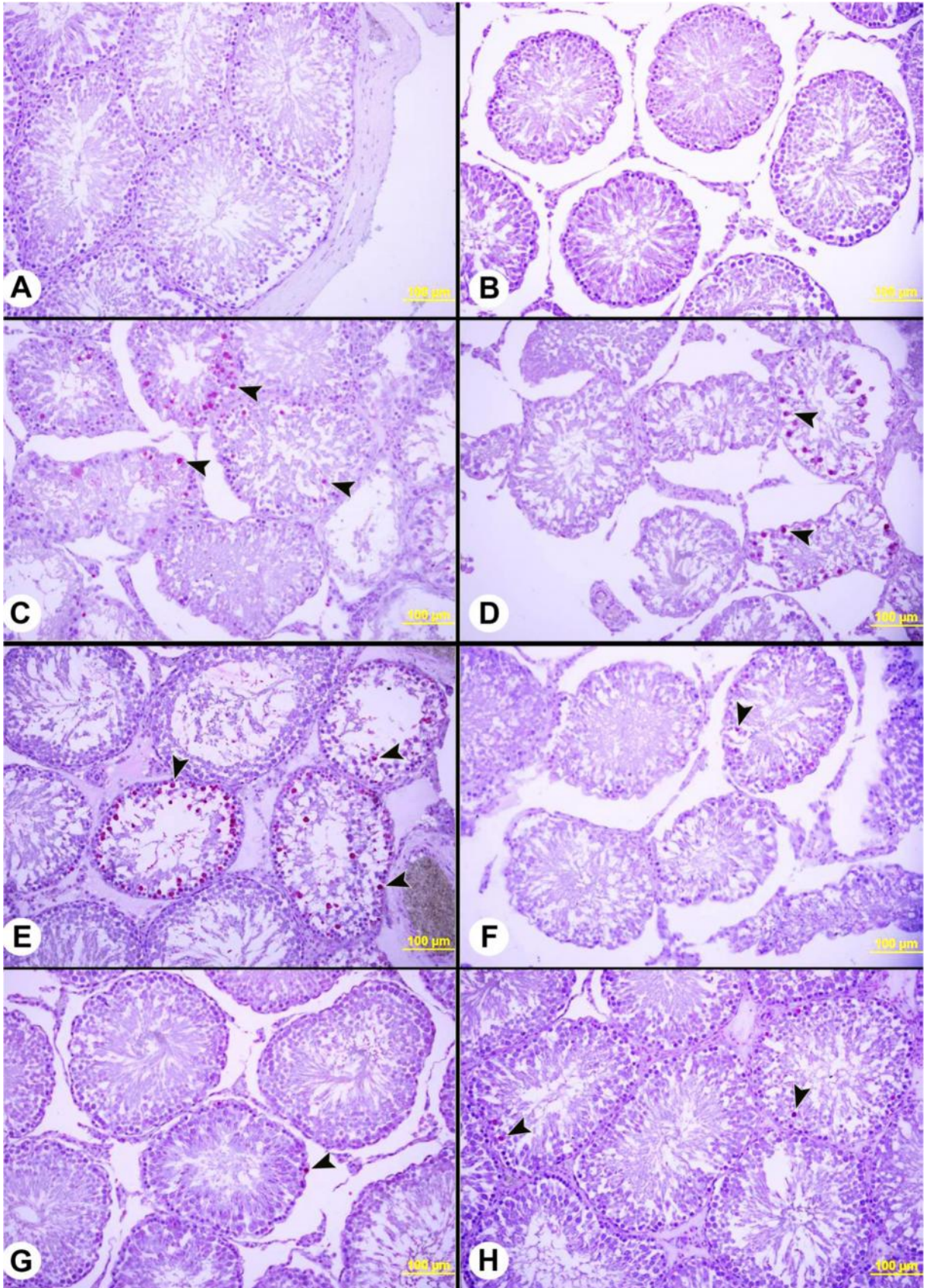
**Table 4.** Changes in diameter of seminiferous tubules, Johnsen's testicular scoring, TUNEL+ apoptotic germ cell number and sperm DNA fragmentation in response to various treatments.

Gruplar	Parametreler			
	DST ( $\mu\text{m}$ )	Johnsen's testicular scoring	TUNEL+ apoptotic germ hücre sayısı	Sperm DNA fragmentasyonu (%)
Kontrol	270.99 $\pm$ 4.42 <sup>ab</sup>	9.58 $\pm$ 0.15 <sup>a</sup>	0.26 $\pm$ 0.06 <sup>a</sup>	3.23 $\pm$ 0.07 <sup>a</sup>
CBO	279.47 $\pm$ 2.73 <sup>a</sup>	9.35 $\pm$ 0.82 <sup>a</sup>	0.45 $\pm$ 0.09 <sup>a</sup>	1.10 $\pm$ 0.02 <sup>b</sup>
DTX	218.56 $\pm$ 3.95 <sup>ef</sup>	5.64 $\pm$ 0.13 <sup>cd</sup>	4.97 $\pm$ 0.71 <sup>b</sup>	11.11 $\pm$ 0.12 <sup>c</sup>
PTX	229.53 $\pm$ 3.75 <sup>de</sup>	5.88 $\pm$ 0.17 <sup>c</sup>	4.75 $\pm$ 0.73 <sup>b</sup>	10.81 $\pm$ 0.11 <sup>c</sup>
DTX+PTX	205.21 $\pm$ 6.19 <sup>f</sup>	5.17 $\pm$ 0.16 <sup>d</sup>	5.28 $\pm$ 0.61 <sup>b</sup>	11.51 $\pm$ 0.11 <sup>d</sup>
DTX+CBO	230.71 $\pm$ 3.87 <sup>de</sup>	6.80 $\pm$ 0.18 <sup>b</sup>	1.29 $\pm$ 0.17 <sup>a</sup>	8.53 $\pm$ 0.08 <sup>e</sup>
PTX+CBO	255.68 $\pm$ 2.98 <sup>bc</sup>	7.44 $\pm$ 0.14 <sup>b</sup>	0.69 $\pm$ 0.14 <sup>a</sup>	8.13 $\pm$ 0.08 <sup>f</sup>
DTX+PTX+CBO	239.61 $\pm$ 3.02 <sup>cd</sup>	6.90 $\pm$ 0.18 <sup>b</sup>	1.64 $\pm$ 0.28 <sup>a</sup>	9.32 $\pm$ 0.10 <sup>g</sup>
Önem	P<0.001	P<0.001	P<0.001	P<0.001

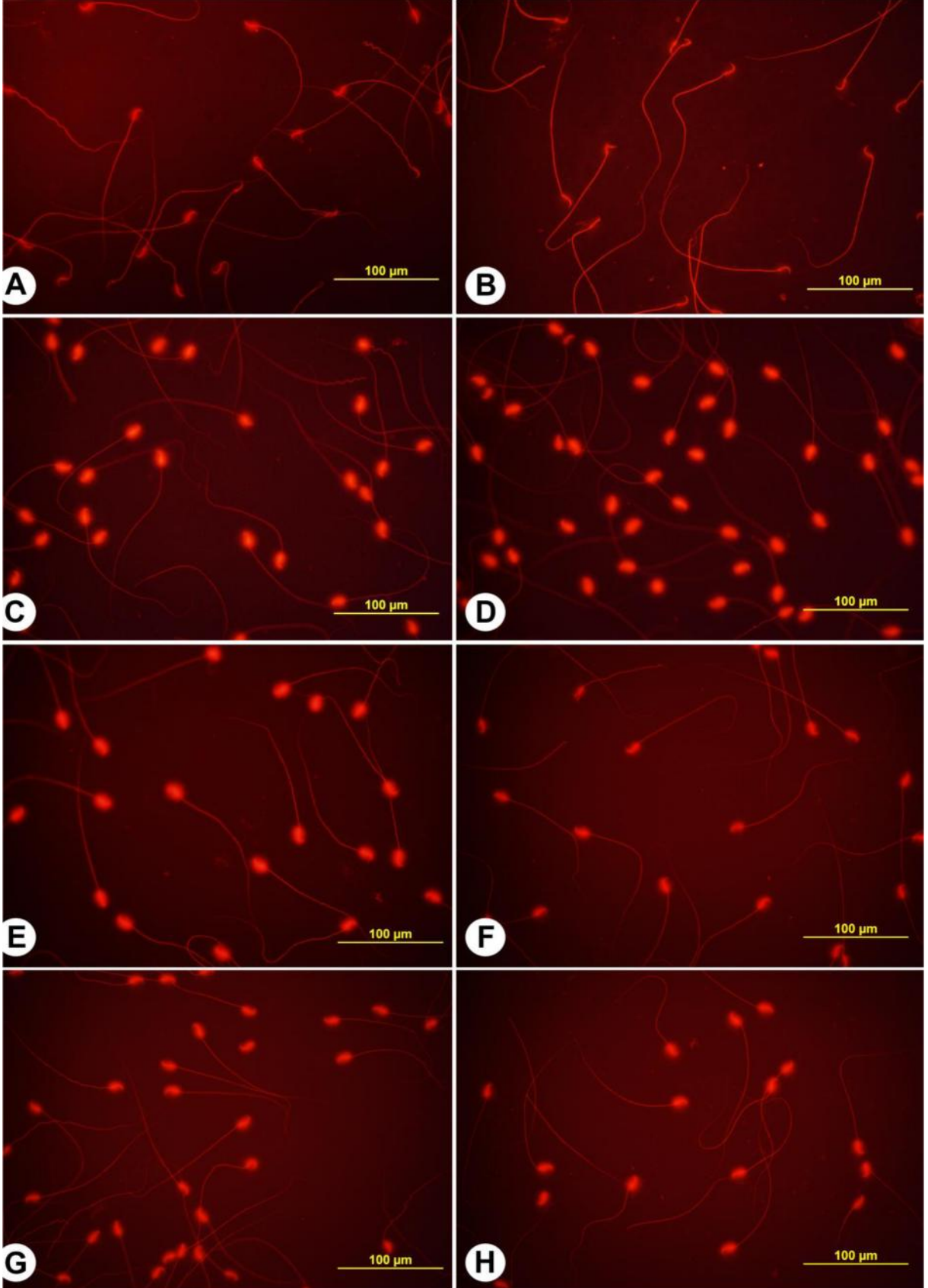
-DST: Diameter of seminiferous tubules, CBO: Cinnamon Bark Oil, DTX: Docetaxel, PTX: Paclitaxel.

-Data are expressed as mean $\pm$ S.E.M.

-Different superscript letters (a, b, c, d, e, f, g) within the same column show significant differences between the groups (P<0.001).



ekil 4. Testis dokusunda apoptotik hücre görüntüleri



## **ekil 5. Rat sperm hücrelerinde COMET görüntüleri**

### ***3.6. Testicular ve epididimal dokuda oksidatif stress***

Testis ve epididimal dokulardaki lipid peroksidasyon düzeyleri (MDA) ve antioksidan enzim düzeyleri (GSH, GSH-Px, CAT) Tablo 5 da verilmiştir. Kontrol ve tarçın yağı uygulaması ile karşılaştırıldığında tüm kemoterapi uygulamaları MDA düzeyini önemli derecede yükseltti ( $P<0.001$ ), GSH ve CAT antioksidan enzim aktivitesini ( $P<0.001$ ) önemli derecede düşürdü. DTX+PTX grubunda diğer kemoterapi gruplarıyla karşılaştırıldığında en yüksek MDA değeri elde edildi. Testis ve epididimal dokularındaki GSH-Px düzeyi tüm deney gruplarında benzer değeri verdi. Tarçın yağı kullanılan PTX- ve DTX+PTX grupları sadece PTX ve DTX+PTX gruplarından daha düşük MDA seviyesine neden oldu ( $P<0.001$ ). Ancak, epididimal dokuda CBO tüketimi DTX-, PTX- ve DTX+PTX-gruplarında sadece kemoterapi uygulanan gruplarla karşılaştırıldığında (DTX, PTX ve DTX+PTX) önemli derecede düşülmeye sebep oldu ( $P<0.001$ ). Testikular dokuda GSH düzeyi DTX+CBO, PTX+CBO ve DTX+PTX+CBO gruplarında (sadece kemoterapi alan gruplarla karşılaştırıldığında) önemli derecede ilerlemeye sebep oldu ( $P<0.001$ ). Epididimal dokuda sadece PTX+CBO grup PTX grubu ile kıyaslandığında önemli derecede GSH düzeyinde artışa sebep oldu ( $P<0.001$ ).





**Table 4.** Changes in oxidative stress markers in testicular and epididymal tissues in response to various treatments.

Groups	Testis				Epididymis			
	MDA (nmol/g prot.)	GSH (nmol/g prot.)	GSH-Px (IU/g prot.)	CAT (k/g prot.)	MDA (nmol/g prot.)	GSH (nmol/g prot.)	GSH-Px (IU/g prot.)	CAT (k/g prot.)
Control	2.92±0.26 <sup>d</sup>	13.64±0.37 <sup>b</sup>	0.63±0.18	63.76±5.00 <sup>ab</sup>	4.24±0.25 <sup>de</sup>	17.69±0.99 <sup>ab</sup>	1.29±0.37	48.51±6.22 <sup>a</sup>
CBO	2.84±0.30 <sup>d</sup>	17.64±1.10 <sup>a</sup>	0.69±0.17	70.96±6.53 <sup>a</sup>	2.73±0.20 <sup>e</sup>	19.97±0.30 <sup>a</sup>	1.49±0.14	57.80±6.42 <sup>a</sup>
DTX	5.68±0.51 <sup>bc</sup>	6.45±0.26 <sup>d</sup>	0.17±0.04	24.91±3.96 <sup>de</sup>	7.13±0.22 <sup>b</sup>	8.27±0.61 <sup>de</sup>	0.71±0.21	20.69±2.57 <sup>c</sup>
PTX	5.26±0.15 <sup>b</sup>	8.80±0.38 <sup>c</sup>	0.35±0.10	40.26±1.81 <sup>cd</sup>	6.10±0.23 <sup>bc</sup>	9.97±0.43 <sup>de</sup>	0.79±0.24	27.79±1.95 <sup>bc</sup>
DTX+PTX	10.50±0.49 <sup>a</sup>	6.21±0.33 <sup>d</sup>	0.25±0.08	16.61±1.74 <sup>e</sup>	11.49±0.76 <sup>a</sup>	7.80±0.64 <sup>e</sup>	0.57±0.11	18.59±1.83 <sup>c</sup>
DTX+CBO	3.91±0.35 <sup>cd</sup>	10.72±0.26 <sup>c</sup>	0.53±0.13	45.06±5.27 <sup>bc</sup>	5.04±0.49 <sup>cd</sup>	13.14±0.94 <sup>bcd</sup>	1.28±0.16	41.43±3.23 <sup>ab</sup>
PTX+CBO	3.49±0.15 <sup>d</sup>	11.43±0.35 <sup>b</sup>	0.42±0.07	52.04±3.73 <sup>abcd</sup>	4.30±0.28 <sup>de</sup>	15.53±2.10 <sup>abc</sup>	1.29±0.12	46.67±5.08 <sup>a</sup>
DTX+PTX+CBO	5.29±0.28 <sup>bc</sup>	9.96±1.06 <sup>c</sup>	0.45±0.13	42.58±5.52 <sup>cd</sup>	5.69±0.29 <sup>bcd</sup>	11.37±0.66 <sup>cde</sup>	1.08±0.18	40.56±4.01 <sup>ab</sup>
Significance	P<0.001	P<0.001	NS	P<0.001	P<0.001	P<0.001	NS	P<0.001

-CBO: Cinnamon Bark Oil, DTX: Docetaxel, PTX: Paclitaxel, MDA: Malondialdehyde, GSH: Reduced Glutathione, GSH-Px: Glutathione-Peroxidase, CAT: Catalase, NS: Non-Significant.

-Data are expressed as mean±S.E.M.

-Different superscript letters (a, b, c, d, e) within the same column show significant differences between the groups (P<0.001).

## 4. Tartı ma

### 4.1. Taksanların hasar verici etkisi

Taksan sınıfı ajanlar (docetaxel, paclitaxel) en önemli kemoterapötiklerdendir. Her iki ajanda benzer mekanizmalara sahiptir, çok çe itli kanser tiplerine (prostat, meme, ovaryum, akci er) kar ı kullanılan geni spektrumlu ajanlardır. Ancak, her ikisinin erkek üreme sistemine etkilerine dair yapılan bilimsel çalı malar oldukça kısıtlıdır. Bu çalı mada, erkek üreme sistemi doku, organ ve hücrelerinde her iki ajanın olası yan etkileri ile CBO kullanımının koruyucu etkisi ara tırılmı tır.

Kemoterapötikler güçlü antitumor aktivitelerine ragmen pek çok sistemde oldu u gibi reproduktif sistem üzerinede toksik etkilidir. Pek çok çalı mada kemoterapötiklerin (Ate ahin ve ark., 2006b; 2006c; Türk ve ark., 2008; 2010; Çeriba ı ve ark., 2012), DTX (Chatzidarellis ve ark., 2010; Altintas ve ark., 2014) ve PTX kullanımının (Koehler-Samouillidou ve ark., 2001; Chatzidarellis ve ark., 2010) reproduktif organ a ırlıklarında azalmalara sebebiyet verdi i bildirilmi tir.

Bu çalı mada, kemoterapi uygulanan ratlarda final vücut a ırlı ı (DTX ve DTX+PTX) ve reproduktif organların gerçek vücut a ırlı ı ile sa cauda epididymis ve ventral prostatın göreceli vücut a ırlı ı önemli derecede dü mü tür.

Ayrıca, bu çalı mada, sa lıklı ratlarda DTX, PTX ve bunların miks kullanımlarının testosteron seviyesinde önemli dü melere sebebiyet verdi i saptanmı tır. Çalı mamızın sonuçlarına göre, testostere seviyesinde dü meler taksanların testis fonksiyonları üzerine zarar verici etkileri oldu unun bir kanıtıdır. Bu sonuçlar, Altınta ve ark. (2014) yaptıkları çalı mada DTX uygulanan ratlarda Leyding hücrelerinde zayıf testostere ekspresyonunu buldukları sonuç ile benzerlik göstermektedir. Ayrıca, kemoterapötik ajanların testostere düzeyleri üzerine olumsuz etkilerinin gösteridi i pek çok çalı ma (Türk ve ark., 2010; Çeriba ı ve ark., 2012) bulunmaktadır. Reproduktif organ a ırlıklarındaki azalmaların sebebinin leyding hücrelerindeki bozulmalara ba lı olarak testostere ekspresyonunda azalmalar oldu u söylenebilir. Çünkü, kalıcı testostere sekresyonu reproduktif organların fonksiyonları, büyümeleri ve vücut metabolizması için gereklidir.

Taksanlar tedavi amaçlı kullanıldıklarında, ROS un a ırı üretimi ve antioksidan enzim düzeylerinde de dü melere sebebiyet verdi inden oksidatif stress geli ir.Taksanların bu durumu karaci er dokusunda da gösterilmi tir (Pieniazek ve ark., 2013).

Sisplatin gibi kemoterapötikler (Ate ahin ve ark., 2006a; 2006b; Türk ve ark., 2008; 2011), adriamycin (Ate ahin ve ark., 2006c; Çeriba ı ve ark., 2012) and cyclophosphamide (Türk et al., 2010), (kanser tedavisinde kullanılmaktadır) oksidan-antioksidan dengede bozulmalara yol açmaktadır. Ancak, imdiye kadar testis dokusunda DTX kullanımının redox dengede hasar verici etkiye sahip oldu unu gösteren (artan MDA düzeyi, azalan SOD, GSH ve GSH-Px) tek bilimsel çalı ma (Altintas ve ark., 2014) yürütülmü tür. Testikular ve epididimal dokularda lipid peroksidasyon ve antioksidan enzyme aktivitesi üzerine PTX ve DTX+PTX kullanımına dair hiçbir çalı ma bulunmamaktadır.

Bu çalı mada, DTX, PTX ve bunların miks kullanımları kontrol grubuyla karşılaştırıldı ında testis ve epididimal dokuda MDA düzeyinin artmasına (Lipid peroksidasyonun göstergesidir) ve GSH ve CAT düzeyinin önemli derecede azalmasına yol açmı tır. En yüksek MDA düzeyi miks gruptan elde edildi. testikular ve epididimal dokuda redoks dengesizli in olası sebebi taksanların uygulama sonrası serbest radikalleri artırmasına ba lı olabilmektedir.

Normalde, ROS un küçük miktarları spermatozoada üretilir ve spermatolojik i lemlerde bu miktar önemli role sahiptir. Ancak, spermatozoa membranlarının doymamı ya asitlerinden zengin ve endojen antioksidan enzimlerinin kısıtlı olaması sebebiyle ROS un a rı miktarlarına oldukça duyarlıdır (Agarwal and Saleh, 2002).

Farklı kemoterapötiklerin spermatozoa sayı ve motilitesinde azalmalara, anormal ve ölü sperm oranında artmalara sebep oldu u bildirilmi tir (Ate ahin et al., 2006a; 2006b; 2006c; Türk et al., 2008; 2010; Çeriba ı et al., 2012). Ayrıca, ratlara DTX (Altintas et al., 2014) ve PTX (Koehler-Samouillidou et al., 2001) uygulamalarının sperm sayı ve motilitelerinde azalmalara ve anormal sperm oranında artmaya yolaçtı ı bildirilmi tir.

Bu çalı mada, DTX, PTX ve bunların miks kullanımları, kontrol grubuyla karşılaştırıldı ında anormal sperm oranında önemli derecede artı a sperm motilite ve yo unlu unda azalmalara yol açmı tır. Bu çalı mada sperm parametrelerindeki bozulmalar testikular ve epididimal dokulardaki oksidatif stresin ekillenmesine ba lanmı tır.

Kemoterapötik ajanların hedef organı testislerdir ve bu ajanların kullanımı testis yapısında olumsuz etkilere, DST ve germ hücre sayısında azalmalar, germ hücrelerin olgunla ma sürecinde gecikmelere (Ate ahin ve ark., et al., 2006b; 2006c; Türk et al., 2008; Çeriba ı et al., 2010; 2012) ve apoptosis vasıtasıyla (Türk et al., 2010; 2011) yoluyla oksidative strese yol açabilir.

Ratlara DTX (Altintas et al., 2014) ve PTX (Koehler-Samouillidou et al., 2001) uygulamaları testislerde önemli yapısal hasarlara ve DTX oksidatif strese, Leyding hücrelerinde testosteron reseptörlerinde azalmalara yol açtığı bildirilmiştir.

Spermatogenik hücreler dahil olmak üzere tüm hücrelerdeki DNA hasarının en önemli göstergesi serbest radikallerin üretilmesi bir sonucu olan apoptosistir (Maheshwari et al., 2009). Kemoterapötikler dahil pek çok toksik maddelerin testikular apoptozise yol açtığı çalışmalarda gösterilmiştir (Türk et al., 2010; 2011; Çeribaşı et al., 2012). DNA bütünlüğü genetik bilginin gelecek nesillere aktarılması açısından oldukça önemlidir. Bu yüzden sperm DNA bütünlüğü, motilite gibi diğer sperm parametrelerinin kalitesi açısından önemli bir indikatördür (Love et al., 2005). DTX ve PTX kullanımının testikular apoptozis ve sperm DNA bütünlüğü üzerine etkilerine dair herhangi bir bilgi bulunmamaktadır. Ancak, bu çalışmada DTX, PTX ve bunların miks kullanımları sonrasında kontrol grubu ile kıyaslandığında testis histolojisinde yapısal bozulmalar, artan apoptotik hücre oranı ve DNA fragmentasyonu gözlenmiştir. Testislerde gözlenen tüm bu değişimler çalışmada kullanılan kemoterapötik ajanların doğrudan ya da dolaylı olarak lipid peroksidasyona yol açtığı ve testislerde yapısal ve fonksiyonel bozulmalara sebebiyet verdiğini göstermektedir.

#### *Tarçının yararlı etkileri*

C. zeylanicum bitkisinin yaprak ve kabuk kısımları baharat olarak ve volatil yağların üretilmesinde kullanılmaktadır. CBO volatil yağların en önemlilerinden biridir. Tarçından elde edilen bu ve diğer esansiyel yağları antioksidan, serbest radikal temizleyicisi, antidiyabetik ve antimikrobiyel özellikler göstermektedir (Jayaprakasha and Rao, 2011).

C.zeylanicumun bu yağ ve diğer ürünlerinin LH, FSH ve testosteron düzeyinde artışa, testis dokusunda lipid peroksidasyon düzeyinde azalmalara (Modaresi et al., 2009; Hemayatkhah Jahromi et al., 2011), reproduktif organ ağırlığında, sperm yoğunluk ve motilitesinde, antioksidan aktivitelerinde (GSH, GSH-Px and CAT) ve sağlıklı hayvanlarda DST seviyesinde artışa yol açtığı bildirilmektedir (Yüce et al., 2013).

Ayrıca, CBO nun uzun süreli kullanımının testis, epididimis, erkek ekleme bezlerini, spermatozoayı koruduğu ve karbon tetraklorid zehirlenmesine karşı oksidatif stresi engelleyerek testikular apoptozisi azalttığı bildirilmiştir (Yüce et al., 2014). Bu çalışmada, sadece DTX kullanan grupla karşılaştırıldığında, DTX kullanılan ratlarda CBO verilmesi gerçek organ ağırlıklarında, testosteron düzeyinde, sperm motilitesinde, testikular GSH düzeyinde, epididimal CAT aktivitesinde önemli derecede artışa, testikular histopatolojik lezyonlarda, apoptozis, DNA kırıkları, epididimal MDA düzeyinde, spermatozoa başı, kuyruk ve anormal spermatozoa oranında önemli derecede azalmalara yol açtığı gözlenmiştir.

PTX+CBO grubu DTX grubu ile kıyaslandı ında reproduktif organların (testis dı ında) gerçek organ a ırlı ında, sa cauda epididimis ve ventral prostatın göreceli organ a ırlıklarında, testosteron düzeyi, sperm motilitesi, yo unlu u, testiküler ve epididimal GSH düzeyi, epididimal CAT aktivitesinde artı a, DTX+CBO grubunun; testiküler ve epididimal MDA seviyesinde, spermatozoa ba , kuyruk ve toplam anormal spermatozoa oranı, testiküler histopatolojik lezyon, apoptozis ve sperm DNA kırıklarında azalmalara yol açtı ı saptanmı tır.

Ayrıca, DTX+PTX+CBO grubu DTX+PTX grubu ile kar ıla tırıldı ında, reproduktif organların gerçek a ırlıklarında, sa cauda epididimis ve ventral prostatın göreceli a ırlıklarında sperm motilitesi, testosteron düzeyi, testiküler GSH düzeyinde, testikular ve epididimal CAT aktivitesinde önemli derecede artı a, sperm ba ve toplam anormal oranında, testiküler ve epididimal MDA seviyesinde, testiküler histopatolojik lezyonlarda, apoptozis ve DNA kırıklarında önemli derecede dü melere sebep olmu tur. Bu durum, DTX, PTX ve DTX+PTX gruplarına CBO kullanımı sayesinde antioksidan-oksidan düzensizli ini engellemesi ile izah edilebilir.

Sonuç olarak, çalı manın sonuçları DTX ve PTX kullanımının reproduktif organ a ırlıklarında azalmalara yol açarak reproduktif organ, doku ve hücrelerde bozulmalar yaptı ını açıkça göstermektedir. Bu bozulmalar devamında serum testosteron düzeyi, sperm motilitesi, yo unlu u, artan anormal sperm oranı, testiküler apoptozis ve DNA kırıklarına sebebiyet vermi tir. Erkek üreme sistemindeki bu bozulmalar taksanların uyardı ı lipid peroksidasyon düzeyi, azalan antioksidan enzim aktivitelerinden kaynaklanmaktadır. Bu çalı manın sonuçları CBO nun uzun süreli tüketiminin erkek reproduktif organ, doku, ve hücrelerinde taksanların olu turdu u yapısal ve fonksiyonel hasarlara kar ı antiperoksidatif etki göstererek iyile tirdi ini açıkça göstermektedir.

## **Kaynaklar**

- Aebi, H., 1983. Catalase. In: Bergmeyer, H.U., (Ed.), *Methods in Enzymatic Analysis*. Academic Press, New York, USA, pp. 276-286.
- Agarwal, A., Saleh, R.A., 2002. Role of oxidants in male infertility: rationale, significance, and treatment. *Urol. Clin. North Am.* 29, 817-827.
- Altintas, R., Ciftci, O., Aydin, M., Akpolat, N., Oguz, F., Beytur, A., 2014. Quercetin prevents docetaxel-induced testicular damage in rats. *Andrologia* (in press). doi: 10.1111/and.12253.
- Aoudjit, F., Vuori, K., 2001. Integrin signaling inhibits paclitaxel-induced apoptosis in breast cancer cells. *Oncogene* 20, 4995-5004.
- Arabi, M., 2005. Bull spermatozoa under mercury stress. *Reprod. Domest. Anim.* 40, 454-459.

- Ate ahin, A., Karahan, ., Türk, G., Gür, S., Yılmaz, S., Çeriba ı, A.O., 2006a. Protective role of lycopene on cisplatin-induced changes in sperm characteristics, testicular damage in rats. *Reprod. Toxicol.* 21, 42-47.
- Ate ahin, A., ahna, E., Türk, G., Çeriba ı, A.O., Yılmaz, S., Yüce, A., Bulmu , Ö., 2006b. Chemoprotective effect of melatonin against cisplatin-induced testicular toxicity in rats. *J. Pineal Res.* 41, 21-27.
- Ate ahin, A., Türk, G., Karahan, ., Yılmaz, S., Çeriba ı, A.O., Bulmu , Ö., 2006c. Lycopene prevents adriamycin-induced testicular toxicity in rats. *Fertil. Steril.* 85 (Suppl 1), 1216-1222.
- Baker, S.D., Sparreboom, A., Verweij, J., 2006. Clinical pharmacokinetics of docetaxel: recent developments. *Clin. Pharmacokinet.* 45, 235-252.
- Bennett, J.P., Vickery, B.H., 1970. Rats and mice. In: Hafez, E.S.E., (Ed.), *Reproduction and Breeding Techniques for Laboratory Animals*. Lea and Febiger, Philadelphia, USA, pp. 299-315.
- Blanco-Rodriguez, J., 1998. A matter of death and life: the significance of germ cell death during spermatogenesis. *Int. J. Androl.* 21, 236-248.
- Boekelheide, K., 2005. Mechanisms of toxic damage to spermatogenesis. *J. Natl. Cancer Inst. Monogr.* 34, 6-8.
- Chatzidarellis, E., Makrilia, N., Giza, L., Georgiadis, E., Alamara, C., Syrigos, K.N., 2010. Effects of taxane-based chemotherapy on inhibin B and gonadotropins as biomarkers of spermatogenesis. *Fertil. Steril.* 94, 558-563.
- Ciftci, M., Simsek, U.G., Yuce, A., Yilmaz, O., Dalkilic, B., 2010. Effects of dietary antibiotic and cinnamon oil supplementation on antioxidant enzyme activities, cholesterol levels and fatty acid compositions of serum and meat in broiler chickens. *Acta Vet. Brno.* 79, 33-40.
- Clarke, S.J., Rivory, L.P., 1999. Clinical pharmacokinetics of docetaxel. *Clin. Pharmacokinet.* 36, 99-114.
- Çeriba ı, A.O., Sakin, F., Türk, G., Sönmez, M., Ate ahin, A., 2012. Impact of ellagic acid on adriamycin-induced testicular histopathological lesions, apoptosis, lipid peroxidation and sperm damages. *Exp. Toxicol. Pathol.* 64, 717-724.
- Çeriba ı, A.O., Türk, G., Sönmez, M., Sakin, F., Ate ahin, A., 2010. Toxic effect of cyclophosphamide on sperm morphology, testicular histology and blood oxidant-antioxidant balance, and protective roles of lycopene and ellagic acid. *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.* 107, 730-736.
- de Lamirande, E., Jiang, H., Zini, A., Kodama, H., Gagnon, C., 1997. Reactive oxygen species and sperm physiology. *Rev. Reprod.* 2, 48-54.
- Guastalla, J.P. III, Dieras, V., 2003. The taxanes: toxicity and quality of life considerations in advanced ovarian cancer. *Br. J. Cancer* 89 (Suppl 3), S16-22.
- Haines, G., Marples, B., Daniel, P., Morris, I., 1998. DNA damage in human and mouse spermatozoa after in vitro-irradiation assessed by the comet assay. *Adv. Exp. Med. Biol.* 444, 789-791.
- Hemayatkhah Jahromi, V., Parivar, K., Forozanfar, M., 2011. The effect of cinnamon extract on spermatogenesis hormonal axis of pituitary gonad in mice. *Iran. J. Appl. Anim. Sci.* 1, 99-103.
- Henkel, R., 2005. The impact of oxidants on sperm function. *Andrologia* 37, 205-206.
- Ho, G.T., Gardner, H., DeWolf, W.C., Loughlin, K.R., Morgentaler, A., 1992. Influence of testicular carcinoma on ipsilateral spermatogenesis. *J. Urol.* 148, 821-825.
- Huddart, R.A., Norman, A., Moynihan, C., Horwich, A., Parker, C., Nicholls, E., Dearnaley, D.P., 2005. Fertility, gonadal and sexual function in survivors of testicular cancer. *Br. J. Cancer* 93, 200-207.
- Huizing, M.T., Misser, V.H., Pieters, R.C., ten Bokkel Huinink, W.W., Veenhof, C.H., Vermorken, J.B., Pinedo, H.M., Beijnen, J.H., 1995. Taxanes: a new class of antitumor agents. *Cancer Invest.* 13, 381-404.

- Jayaprakasha, G.K., Rao, L.J.M., 2011. Chemistry, biogenesis, and biological activities of *Cinnamomum zeylanicum*. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 51, 547-562.
- Johnsen, S.G., 1970. Testicular biopsy score count a method for registration of spermatogenesis in human normal values and results in 335 hypogonadal males. *Hormones* 1, 2-25.
- Kempinas, W.D.G., Suarez, J.D., Roberts, N.L., Strader, L., Ferrell, J., Goldman, J.M., Klinefelter, G.R., 1998. Rat epididymal sperm quantity, quality, and transit time after guanethidine-induced sympathectomy. *Biol. Reprod.* 59, 890-896.
- Koehler-Samouillidou, G., Kaldrymidou, E., Papaioannou, N., Kotsaki-Kovatsi, V.P., Vadarakis, A., 2001. The effect of paclitaxel (taxol) on the reproductive system and the semen parameters as well as on other organs of male rats. *J. Hell. Vet. Med. Soc.* 52, 23-31.
- Koksal, I.T., Usta, M., Orhan, I., Abbasoglu, S., Kadioglu, A., 2003. Potential role of reactive oxygen species on testicular pathology associated with infertility. *Asian J. Androl.* 5, 95-99.
- Kuroi, K., Shimozuma, K., 2004. Neurotoxicity of taxanes: symptoms and quality of life assessment. *Breast Cancer* 11, 92-99.
- Lawrence, R.A., Burk, R.F., 1976. Glutathione peroxidase activity in selenium-deficient rat liver. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 71, 952-958.
- Lee, J., Richburg, J.H., Younkin, S.C., Boekelheide, K., 1997. The Fas system is a key regulator of germ cell apoptosis in the testis. *Endocrinology* 138, 2081-2088.
- Love, C.C., Brinsko, S.P., Rigby, S.L., Thompson, J.A., Blanchard, T.L., Varner, D.D., 2005. Relationship of seminal plasma level and extender type to sperm motility and DNA integrity. *Theriogenology* 63, 1584-1591.
- Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L., Randall, R.J., 1951. Protein measurement with folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193, 265-275.
- Lyseng-Williamson, K.A., Fenton, C., 2005. Docetaxel: a review of its use in metastatic breast cancer. *Drugs*, 65, 2513-2531.
- Maheshwari, A., Misro, M.M., Agarwal, A., Sharma, R.K., Nandan, D., 2009. Pathways involved in testicular germ cell apoptosis induced by H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in vitro. *FEBS J.* 276, 870-881.
- Marchettini, P., Stuart, O.A., Mohamed, F., Yoo, D., Sugarbaker, P.H., 2002. Docetaxel: pharmacokinetics and tissue levels after intraperitoneal and intravenous administration in a rat model. *Cancer Chemother. Pharmacol.* 49, 499-503.
- Meistrich, M.L., Vassilopoulou-Sellin, R., Lipshultz, L.I., 2005. Adverse effects of treatment: gonadal dysfunction. In: DeVita, V.T., Hellman, S., Rosenberg, S.A., (Eds.), *Cancer: Principles and Practice of Oncology*. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, USA, pp. 2560-2574.
- Michael, A., Syrigos, K., Pandha, H., 2009. Prostate cancer chemotherapy in the era of targeted therapy. *Prostate Cancer Prostatic Dis.* 12, 13-16.
- Modaresi, M., Messripour, M., Rajaei, R., 2009. The effect of cinnamon (bark) extract on male reproductive physiology in mice. *Armaghan Danesh* 14, 67-77.
- Nuijen, B., Bouma, M., Schellens, J.H., Beijnen, J.H., 2001. Progress in the development of alternative pharmaceutical formulations of taxanes. *Invest. New Drugs* 19, 143-153.
- Petersen, P.M., Hansen, S.W., Giwercman, A., Rorth, M., Skakkebaek, N.E., 1994. Dose-dependent impairment of testicular function in patients treated with cisplatin-based chemotherapy for germ cell cancer. *Ann. Oncol.* 5, 355-358.
- Pieniazek, A., Czepas, J., Piasecka-Zelga, J., Gwozdziński, K., Koceva-Chyla, A., 2013. Oxidative stress induced in rat liver by anticancer drugs doxorubicin, paclitaxel and docetaxel. *Adv. Med. Sci.* 58, 104-111.
- Placer, Z.A., Cushman, L.L., Johnson, B.C., 1966. Estimation of product of lipid peroxidation (malonyl dialdehyde) in biochemical systems. *Anal. Biochem.* 16, 359-364.



- Reed, J.C., 1995. Regulation of apoptosis by bcl-2 family proteins and its role in cancer and chemoresistance. *Curr. Opin. Oncol.* 7, 541-546.
- Rouini, M.R., Lotfolahi, A., Stewart, D.J., Molepo, J.M., Shirazi, F.H., Vergniol, J.C., Tomiak, E., Delorme, F., Vernillet, L., Giguere, M., Goel, R., 1998. A rapid reversed phase high performance liquid chromatographic method for the determination of docetaxel (Taxotere®) in human plasma using a column switching technique. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 17, 1243-1247.
- Rowinsky, E.K., Onetto, N., Canetta, R.M., Arbuck, S.G., 1992. Taxol: the first of the taxanes, an important new class of antitumor agents. *Semin. Oncol.* 19, 646-662.
- Schrader, M., Muller, M., Straub, B., Miller, K., 2001. The impact of chemotherapy on male fertility: a survey of the biologic basis and clinical aspects. *Reprod. Toxicol.* 15, 611-617.
- Sedlak, J., Lindsay, R.H., 1968. Estimation of total, protein-bound and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. *Anal. Biochem.* 25, 192-205.
- Türk, G., Ate ahin, A., Sönmez, M., Çeriba ı, A.O., Yüce, A., 2008. Improvement of cisplatin-induced injuries to sperm quality, the oxidant-antioxidant system, and the histologic structure of the rat testis by ellagic acid. *Fertil. Steril.* 89 (5S), 1474-1481.
- Türk, G., Çeriba ı, A.O., Sakin, F., Sönmez, M., Ate ahin, A., 2010. Antiperoxidative and anti-apoptotic effects of lycopene and ellagic acid on cyclophosphamide-induced testicular lipid peroxidation and apoptosis. *Reprod. Fertil. Dev.* 22, 587-596.
- Türk, G., Çeriba ı, A.O., ahna, E., Ate ahin, A., 2011. Lycopene and ellagic acid prevent testicular apoptosis induced by cisplatin. *Phytomedicine* 18, 356-361.
- Verit, F.F., Verit, A., Kocyigit, A., Ciftci, H., Celik, H., Koksall, M., 2006. No increase in sperm DNA damage and seminal oxidative stress in patients with idiopathic infertility. *Arch. Gynecol. Obstet.* 274, 339-344.
- Yüce, A., Türk, G., Çeriba ı, S., Güvenç, M., Çiftçi, M., Sönmez, M., Özer Kaya, ., Çay, M., Aksakal, M., 2014. Effectiveness of cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum*) bark oil in the prevention of carbon tetrachloride-induced damages on the male reproductive system. *Andrologia* 46, 263-272.
- Yüce, A., Türk, G., Çeriba ı, S., Sönmez, M., Çiftçi, M., Güvenç, M., 2013. Effects of cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum*) bark oil on testicular antioxidant values, apoptotic germ cell and sperm quality. *Andrologia* 45, 248-255.

### **ekil Açıklamaları**

**ekil 1.** Changes in final body weights in response to various treatments.

-CBO: Tarçın Ya 1 DTX: Docetaxel, PTX: Paclitaxel.

-Data are expressed as mean±S.E.M.

-Different superscript letters (a, b, c) show significant differences between the groups (P<0.001).

**ekil 2.** Changes in testosterone levels in response to various treatments.

-CBO: Tarçın ya 1 DTX: Docetaxel, PTX: Paclitaxel.

-Data are expressed as mean±S.E.M.

-Different superscript letters (a, b) show significant differences between the groups (P<0.001).

**ekil 3.** Microphotographic views of testicular histological structure

Kontrol (A), Tarçın ya 1 (B), docetaxel (C), paclitaxel (D), docetaxel+paclitaxel (E), docetaxel+CBO (F), paclitaxel+CBO (G) ve docetaxel+paclitaxel+CBO (H) gruplar (Hematoxylin ve Eosin boyama).

**ekil 4.** Microphotographic views of TUNEL+ apoptotic germ cells in testicular tissue

Kontrol (A), Tarçın ya 1 (B), docetaxel (C), paclitaxel (D), docetaxel+paclitaxel (E), docetaxel+ CBO (F), paclitaxel+ CBO (G) ve docetaxel+paclitaxel+CBO (H) gruplar (TUNEL boyama).

**ekil 5.** Microphotographic views of sperm DNA fragmentation

Kontrol (A), Tarçın ya 1 (B), docetaxel (C), paclitaxel (D), docetaxel+paclitaxel (E), docetaxel+ CBO (F), paclitaxel+ CBO (G) ve docetaxel+paclitaxel+CBO (H) gruplar (Ethidium bromide boyama).