



T.C.

**ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**SIÇANLARDA AKRİLAMİT İLE OLUŞTURULAN
TESTİS HASARI ÜZERİNE
L-SİSTEİNİN ETKİSİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

SEDAT KAÇAR

**DANIŞMAN
PROF. DR. VAROL ŞAHİNTÜRK**

2015



T.C.

**ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**SIÇANLARDA AKRİLAMİT İLE OLUŞTURULAN
TESTİS HASARI ÜZERİNE
L-SİSTEİNİN ETKİSİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

SEDAT KAÇAR

**DANIŞMAN
PROF. DR. VAROL ŞAHİNTÜRK**

2015

KABUL VE ONAY SAYFASI

Sedat KAÇAR'ın Yüksek Lisans Tezi olarak hazırladığı "Sıçanlarda akrilamit ile oluşturulan testis hasarı üzerine L-sisteinin etkisi" başlıklı bu çalışma Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddesi uyarınca değerlendirilerek "**KABUL**" edilmiştir.

01.07.2015

Üye: Prof. Dr. Cengiz BAYÇU

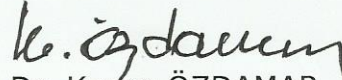
Üye: Prof. Dr. Varol ŞAHİNTÜRK (Danışman)

Üye: Doç. Dr. Engin YILDIRIM

Üye: Doç. Dr. Adnan AYHANCI

Üye: Yrd. Doç. Dr. Dilek BURUKOĞLU DÖNMEZ

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 03/07/2015 tarih ve 1053/4.925 sayılı kararı ile onaylanmıştır.


Prof. Dr. Kazim ÖZDAMAR
Enstitü Müdürü

ÖZET

Akrilamid kozmetik, kâğıt ve tekstil sanayisinden, atık su arıtımı laboratuvar gibi birçok alanda kullanılmaktadır. Ayrıca çok yüksek sıcaklıklarda (>200 °C) bazı gıdalarda da oluşmaktadır. Akrilamidin deney hayvanları üzerinde nörotoksik, kanserojenik ve genotoksik etkileri bulunmuştur. Bu sebepten insan ve hayvan sağlığı için ciddi bir risk teşkil etmektedir.

Bu çalışmada sıçanlarda akrilamidin testise verdiği hasara karşı L-sisteinin etkisini belirlemeyi amaçladık.

Çalışmamızda 240-320 g ağırlığında olan, 11-12 haftalık, 28 adet erkek Sprague-Dawley türü sıçanlar kullanıldı. Sıçanlar kontrol (i.p. serum fizyolojik), akrilamid (40 mg/kg i.p.), L-sistein (150 mg/kg i.p.) ve akrilamid + L-sistein olarak 4 eşit gruba ayrıldı. 10 gün boyunca devam eden deney süresinde hayvanların vücut ağırlıkları kaydedildi. Sıçanlar onbirinci gün anestezi altında sakrifiye edildiler. Kan örnekleri total testosteron düzeyleri ölçülmek üzere toplandı, testisler zaman kaybı olmaksızın çıkarıldı ve ağırlıkları ölçüldü. Bouin solüsyonunda tespit edilmiş testislere mikroskopik inceleme ve morfometrik ölçümler yapıldı. Hayvanların deney öncesi ve deney sonrası vücut ve testis ağırlıkları karşılaştırıldı.

Deney sonunda akrilamid ve L-sistein + akrilamid verilen gruplarda hem vücut, hem de testis ağırlıklarında istatistiksel olarak anlamlı bir ağırlık azalması izlendi. Ancak, testis ağırlık indeksinde anlamlı bir değişim belirlenmedi. Histolojik incelemelerde, seminifer tübüllerde akrilamid grubunda birçok dev hücre gözlenirken, L-sistein + akrilamid grubunda birkaç tane dev hücre saptandı. Akrilamid ve L-sistein + akrilamid gruplarında seminifer tübül çaplarında istatistiksel bir azalma bulundu. Serum total testosteron miktarlarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmasa da akrilamid ve L-sistein + akrilamid verilen gruplarda testosteron düzeyinde bir düşüş gözlemlendi.

Sonuç olarak L-sistein akrilamid kaynaklı toksisiteye karşı seminifer tübül çapı, vücut ağırlığı ve testis ağırlığını tam olarak koruyamamaktadır. Ayrıca testosteron düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir değişim gözlenmemiştir. Ancak L-sistein histolojik incelemelerde seminifer tübüllerdeki dev hücre sayısını azaltmıştır.

Anahtar kelimeler: akrilamid, L-sistein, testis, sıçan, toksikoloji, testosteron.

ABSTRACT

Acrylamide is used in many fields from cosmetics, paper and textile industries to wastewater treatment and laboratories. It is also formed in certain foods when heated them to high degree, especially greater than 200 °C. It has been reported that acrylamide has neurotoxic, carcinogenic and genotoxic effects on laboratory animals. Therefore, acrylamide poses a significant risk for both human and animal health.

In this study, we aimed to determine the effect of L-cysteine against acrylamide-induced testis damage in rats.

Our experimental study was conducted on 28 male Sprague-Dawley rats, aged 11-12 weeks and weighing 240-320 g. They were randomly allotted into four equal groups as control group (i.p. only physiologic saline solution), acrylamide group (40 mg/kg i.p), L-cysteine group (150 mg/kg i.p.), acrylamide + L-cysteine group. During 10 days long experiment, body weights of animals were recorded. The rats were sacrificed under anesthesia on eleventh day of experiment. Blood samples were collected to analyze total testosterone levels, testes were excised immediately and testis weights were measured. The testes fixed in bouin solution were examined morphologically and microscopically. Testis and body weights are compared among the groups.

At the end of the experiment, statistically significant weight decrease was found both in testis weights and body weights of the rats in groups treated with acrylamide and acrylamide+L-cysteine. Nevertheless, no statistically significant was found in testes index. In histological examinations, whereas many giant cells were observed in groups treated with acrylamide, a few giant cells were observed in groups treated with acrylamide + L-cysteine in seminiferous tubules. In acrylamide and acrylamide +L-cysteine groups, there were significant decrease in the diameter of seminiferous tubules. Even though not finding statistically significant change, we observed a decrease on total testosterone level in both acrylamide and acrylamide +L-cysteine groups.

In conclusion, L-cysteine could not fully protect rats against acrylamide-induced toxicity with respect to total body weight, testis weight and seminiferous tubule diameter. In addition, no statistically significant change was observed in the of testosterone levels. However, L-cysteine decreased frequency of giant cells in seminiferous epithelium in histological examinations.

Keywords: Acrylamide, L-cysteine, testis, rat, toxicology, testosterone.

İÇİNDEKİLER

| | |
|--|-----------|
| KABUL VE ONAY SAYFASI | ii |
| ÖZET | iii |
| ABSTRACT | iv |
| İÇİNDEKİLER | v |
| TABLolar DİZİNİ..... | viii |
| ŞEKİLLER DİZİNİ..... | ix |
| SİMGELER VE KISALTMALAR..... | xi |
| 1. GİRİŞ VE AMAÇ..... | 1 |
| 2. GENEL BİLGİLER..... | 3 |
| 2.1. Testisin Anatomisi..... | 3 |
| 2.2. Testisin Embriyolojisi..... | 5 |
| 2.3. Testisin Histolojisi..... | 8 |
| 2.3.1. Seminifer tübüller..... | 9 |
| 2.3.2. İnterstisyel alan | 12 |
| 2.3.3. Spermatogenez | 14 |
| 2.4. Akrilamid | 18 |
| 2.4.1. Akrilamidin moleküler yapısı | 18 |
| 2.4.2. Akrilamidin etki mekanizması | 19 |
| 2.4.3. Akrilamidin kullanım alanları..... | 20 |
| 2.4.4. Akrilamidin toksik etkisi..... | 21 |
| 2.4.5. Akrilamidin kanserojen etkisi..... | 21 |
| 2.4.6. Akrilamidin nörotoksik etkileri | 22 |
| 2.4.7. Akrilamidin diğer etkileri | 22 |
| 2.4.8. Akrilamidin üremeye etkisi..... | 23 |
| 2.5. L-sistein..... | 24 |
| 2.5.1. L-sisteinin antioksidan özelliği | 24 |

| | |
|--|-----------|
| 2.5.2. <i>L-sisteinin türevi NAC</i> | 26 |
| 3. GEREÇ VE YÖNTEM | 28 |
| 3.1. Deney Hayvanları..... | 28 |
| 3.2. Kimyasallar..... | 29 |
| 3.3. Vücut Ağırlıklarının Ölçümü | 29 |
| 3.4. Bouin Çözeltilisinin Hazırlanması | 30 |
| 3.5. Dokuların Alınması..... | 30 |
| 3.6. Testis Ağırlıklarının Ölçümü..... | 30 |
| 3.7. Işık Mikroskobu için Dokuların Hazırlanması | 30 |
| 3.8. Kesitlerin Alınması ve Boyanması | 31 |
| 3.9. Histolojik Değerlendirme | 33 |
| 3.10. Morfolojik İnceleme..... | 33 |
| 3.10.1. <i>Seminifer tübül çapı ölçümü</i> | 33 |
| 3.10.2. <i>Dev hücre sayımı</i> | 33 |
| 3.11. Hormon Analizi | 34 |
| 3.12. İstatiksel Analiz | 34 |
| 4. BULGULAR | 35 |
| 4.1. Vücut ve Testis Ağırlıkları | 35 |
| 4.1.1. <i>Deney başlangıcı vücut ağırlığı</i> | 35 |
| 4.1.2. <i>Deney sonu vücut ağırlığı</i> | 36 |
| 4.1.3. <i>Deney başlangıcı ve deney sonu vücut ağırlıkları</i> | 38 |
| 4.1.4. <i>Sağ testis ağırlığı</i> | 39 |
| 4.1.5. <i>Sol testis ağırlığı</i> | 41 |
| 4.1.6. <i>Sağ ve sol testis ağırlıkları</i> | 42 |
| 4.1.7. <i>Toplam testis ağırlığı (TTA)</i> | 43 |
| 4.1.8. <i>Testis ağırlık indeksi (TAİ)</i> | 45 |
| 4.2. Histopatolojik İnceleme | 46 |

| | |
|---|----|
| 4.2.1. Kontrol grubu | 46 |
| 4.2.2. L-sistein grubu | 46 |
| 4.2.3. Akrilamit grubu | 46 |
| 4.2.4. Akrilamit+L-sistein grubu | 47 |
| 4.3. Morfometrik İnceleme | 53 |
| 4.3.1. Seminifer túbül çapı ölçümü | 53 |
| 4.3.2. Dev hücre sayımı | 54 |
| 4.4. Total Testosteron Ölçümü | 56 |
| 5. TARTIŞMA | 59 |
| 6. SONUÇ ve ÖNERİLER | 69 |
| KAYNAKLAR DİZİNİ | 70 |
| ÖZGEÇMİŞ | 81 |

TABLolar DİZİNİ

| | | |
|--------------------|---|----|
| Tablo 3. 1 | Hayvan grupları ve verilen doz miktarları | 29 |
| Tablo 3. 2 | Testis dokularının takibinde kullanılan süreler | 31 |
| Tablo 3. 3 | H-E boyama süreleri | 32 |
| Tablo 4. 1 | Deney öncesi vücut ağırlıkları | 35 |
| Tablo 4. 2 | Deney sonrası vücut ağırlığı farkları | 37 |
| Tablo 4. 3 | Deney öncesi ve sonrası vücut ağırlıkları | 38 |
| Tablo 4. 4 | Sağ testis ağırlıklarının karşılaştırılması | 40 |
| Tablo 4. 5 | Sol testis ağırlıklarının karşılaştırılması | 41 |
| Tablo 4. 6 | Toplam testis ağırlıklarının karşılaştırılması | 44 |
| Tablo 4. 7 | Testis ağırlık indekslerinin karşılaştırılması | 45 |
| Tablo 4. 8 | Testis seminifer tübül çapı ölçümleri | 53 |
| Tablo 4. 9 | Seminifer tübüllerinde dev hücre sayısı yüzdesi | 55 |
| Tablo 4. 10 | Serum total testosteron ölçümleri | 56 |

ŞEKİLLER DİZİNİ

| | |
|--|----|
| Şekil 2. 1 Testisin sagital kesiti | 3 |
| Şekil 2. 2 Primordial germ hücrelerinin izlediği yol | 6 |
| Şekil 2. 3 Testisin histolojik görüntüsü. | 13 |
| Şekil 2. 4 Spermatogenezin aşamaları..... | 14 |
| Şekil 2. 5 Spermiyogenezin aşamaları. | 18 |
| Şekil 2. 6 Akrilamidin kimyasal formülü | 19 |
| Şekil 2. 7 Akrilamidin etki mekanizması | 20 |
| Şekil 2. 8 L-sisteinin kimyasal formülü. | 24 |
| Şekil 3. 1 Seminifer tübül çapı ölçümü | 34 |
| Şekil 4. 1 Deney öncesi vücut ağırlıkları. | 36 |
| Şekil 4. 2 Deney sonrası vücut ağırlıkları. | 37 |
| Şekil 4. 3 Deney öncesi ve sonrası vücut ağırlıkları..... | 39 |
| Şekil 4. 4 Sağ testis ağırlıkları. | 40 |
| Şekil 4. 5 Sol testis ağırlıkları. | 42 |
| Şekil 4. 6 Sağ ve sol testis ağırlıkları..... | 43 |
| Şekil 4. 7 Toplam testis ağırlığı.. | 44 |
| Şekil 4. 8 Testis ağırlık indeksi | 45 |
| Şekil 4. 9 Kontrol grubuna ait testis dokusunun ışık mikroskobu görüntüsü..... | 48 |
| Şekil 4. 10 Kontrol grubuna ait testis dokusunun ışık mikroskobu görüntüsü..... | 48 |
| Şekil 4. 11 L-sistein grubuna ait testis dokusunun ışık mikroskobu görüntüsü..... | 49 |
| Şekil 4. 12 L-sistein grubuna ait testis dokusunun ışık mikroskobu görüntüsü..... | 49 |
| Şekil 4. 13 Akrilamit grubuna ait testis dokusunun ışık mikroskobu görüntüsü..... | 50 |
| Şekil 4. 14 Akrilamit grubuna ait testis dokusunun ışık mikroskobu görüntüsü..... | 50 |

| | |
|---|----|
| Şekil 4. 15 Akrilamit grubuna ait testis dokusunun ışık mikroskobu görüntüsü..... | 51 |
| Şekil 4. 16 Akrilamit grubuna ait testis dokusunun ışık mikroskobu görüntüsü..... | 51 |
| Şekil 4. 17 Akrilamit + L-sistein grubuna ait testis dokusunun ışık mikroskobu görüntüsü. | 52 |
| Şekil 4. 18 Akrilamit + L-sistein grubuna ait testis dokusunun ışık mikroskobu görüntüsü. | 52 |
| Şekil 4. 19 Gruplardaki seminifer tübül çapları. | 54 |
| Şekil 4. 20 Seminifer tübüllerde dev hücre görülme sıklığı. | 55 |
| Şekil 4. 21 Gruplardaki testosteron miktarları.. | 57 |
| Şekil 4. 22 Akrilamit grubu arka bacak yayvanlığı..... | 58 |

SİMGELER VE KISALTMALAR

| | |
|----------------|---|
| ABP | Androjen Bağlayıcı Protein |
| AMH | Antimüllerian Hormon |
| FSH | Folikül Uyarıcı Hormon |
| g | Gram |
| GSH | Glutatyon |
| GST | Glutatyon-S-Transferaz |
| H-E | Hematoksilin-Eozin |
| IARC | Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı |
| i.p. | intraperitoneal |
| LH | Luteinizan Hormon |
| MIS | Müllerian İnhibitör Madde |
| NAC | N-asetil-L-sistein |
| SF | Serum fizyolojik |
| SRY | Y Kromozomun Cinsiyeti Belirleyen Bölgesi |
| WHO Örgütü) | World Health Organization (Dünya Sağlık |

1. GİRİŞ VE AMAÇ

İlk 1893'de Almanya'da üretilen akrilamit 1954' de ticari bir ürün haline getirilmiş ve suda çözünebilen kimyasal bir birleşiktir (Smith & Oehme, 1991). Akrilamit endüstriyel olarak üretilen, kimyasal olarak reaktif ve polimer, kozmetik, kâğıt ve tekstil gibi sanayide, atık su arıtmada, laboratuvar jellerinde kullanılan bir moleküldür (Mendel Friedman, 2003; Smith & Oehme, 1991). Akrilamit poliakrilamidle birlikte laboratuvar araştırmalarında çok kullanılan bir kimyasaldır. Elektroforez yönteminde poliakrilamidle birlikte jeli oluşturmada kullanılır (Mendel Friedman, 2003). Akrilamidin 2002 yılında gıdalarda bulunduğu saptandıktan sonra önemi daha da artmıştır (E. Tareke, Rydberg, Karlsson, Eriksson, & Tornqvist, 2000). Ekmek, bisküviler, krakerler, kahvaltılık tahıllar, kızarmış patates, patates cipsi ve kahve gibi pek çok üründe çeşitli düzeylerde akrilamit bulunduğu bildirilmektedir (Borouhaki, Nikkhah, Kazemi, Oskooei, & Raters, 2010; Claus, Carle, & Schieber, 2008). Daha çok pişirme, fırınlama, kızartma işlemleri sonrası 120 °C üstündeki yüksek sıcaklıklarda işlem gören besinlerde bulunmuştur (Mottram, Wedzicha, & Dodson, 2002; E. Tareke vd., 2000). Bunun başlıca sebebi asparagin aminoasidi ile glikoz ve früktoz gibi şekerlerin arasında gerçekleşen Maillard reaksiyonudur (Mottram vd., 2002; Stadler vd., 2002; Zyzak vd., 2003). Adı geçen bu maddelerden zengin özellikle bitkisel kaynaklı besinlerde (patates, tahıl, hindistan cevizi, mercimek ve kuşkonmaz gibi) akrilamit daha çok oluşur (M. Friedman & Levin, 2008). Akrilamidin poliakrilamit denilen zararsız formu ve monomerik yapıdaki toksik olan formu vardır (Abramsson-Zetterberg, 2003).

Toksik etkisi bakımından akrilamit 2A grubu maddeler sınıfındadır. 2A grubu maddeler Uluslararası Kanser Araştırma Kurumu (IARC) tarafından 1994 yılında belirlenen insanlar için kanser yapma olasılığı bulunan maddelerdendir (IARC, 1994; Ruden, 2004).

Akrilamidin deney hayvanları üzerinde nörotoksik, kanserojenik ve genotoksik etkileri vardır. Ayrıca üreme sistemi üzerinde de çeşitli sorunlara yol açtığı belirlenmiştir (Parzefall, 2008; Tamer & Karaman, 2006)(Tamer & Karaman, 2006; Parzefall, 2008). Aynı zamanda deri yoluyla emilerek kana verildiği (Gutierrez-Espeleta, Hughes, Piegorsch, Shelby, & Generoso, 1992 Shelby & Generoso, 1992) ve sigara dumanında bulunduğu saptanmıştır (Carere, 2006).

Üremeye olan etkileri arasında; farede sperm sayısında azalma ve anormal sperm morfolojisinde artış, spermatojenik hücrelerde vakuolleşme, sperm germ hücrelerinde DNA hasarı, testosteron ve Leydig hücre sayısında azalma, testisteki hücreleri apoptozise götürme, dev hücrelere yol açma, spermatozitte hücre döngüsünde gecikmeye yol açma

gibi etkiler bulunmaktadır (M. Friedman & Levin, 2008; Gassner & Adler, 1996; Junko Sakamoto & Hashimoto, 1986; J. Sakamoto, Kurosaka, & Hashimoto, 1988; Sega, Generoso, Brimer, & Malling, 1990; Tyl, Marr, Myers, Ross, & Friedman, 2000; H. J. Yang vd., 2005a). Akrilamidin hayvanlarda çiftleşmede ve hamilelikte hatta uterus içerisinde sperm transportunda azalmalara yol açtığı bildirilmiştir (Tyl vd., 2000).

L-sistein sülfür içeren bir aminoasittir ve sülfhidril bağları içerir. Sülfür içeren 3 aminoasitten biri olup inorganik sülfat, koenzim A, taurin, glutatyon ve protein sentezinde öncül bir aminoasittir (LifeExtension, 2003). L-sistein yarı esansiyel bir aminoasittir. Memeliler bu aminoasidi karaciğerde sentezleyebilir (MicrobialWorld, 2012). Ayrıca, yapısal proteinlerin sentezini sağlar, sinir hücrelerinin okside olmasını engeller, bağ dokusunun stabilitesini ve sertliğini korur ve vücutta iyileşme sürecini artırarak inflamatuvar reaksiyonları azaltır (Mendel Friedman, 1994; ScienceDaily, 2009; Stevens, Wilson, & Friedman, 1995). L-sisteinin asetillenmiş türevi olan N-asetil sistein Dünya Sağlık Örgütü'nde en önemli medikal ilaçlar listesine girmiştir (WHO, 2013). NAC'nin oksidatif strese karşı koruyucu etkisi olduğu bilinmektedir (Reddy, Rani, Sainath, Meena, & Supriya, 2011). Bu etkiler arasında semenin hacmi, viskozitesi, sperm motilitesi ve testis morfolojisi üzerindeki faydalı etkileri, hidroksil radikallerini temizlemesi, glutatyon üretimini tetiklemesi ve şelatör olarak hücrelere verilen oksidatif hasarı engellemesi bulunmaktadır (Aruoma, Halliwell, Hoey, & Butler, 1989; Ciftci, Verit, Savas, Yeni, & Erel, 2009; Cocco vd., 2005; Farombi vd., 2008; Kumamoto, Sonda, Nagayama, & Tabata, 2001). NAC canlının normal kimyasına yabancı bir maddedir ve sisteinin asetillenmesiyle oluşur. L-sistein ise canlı için doğal bir maddedir. Bu bakımdan NAC yerine L-sistein kullanımı çalışmamızda tercih edilmiştir.

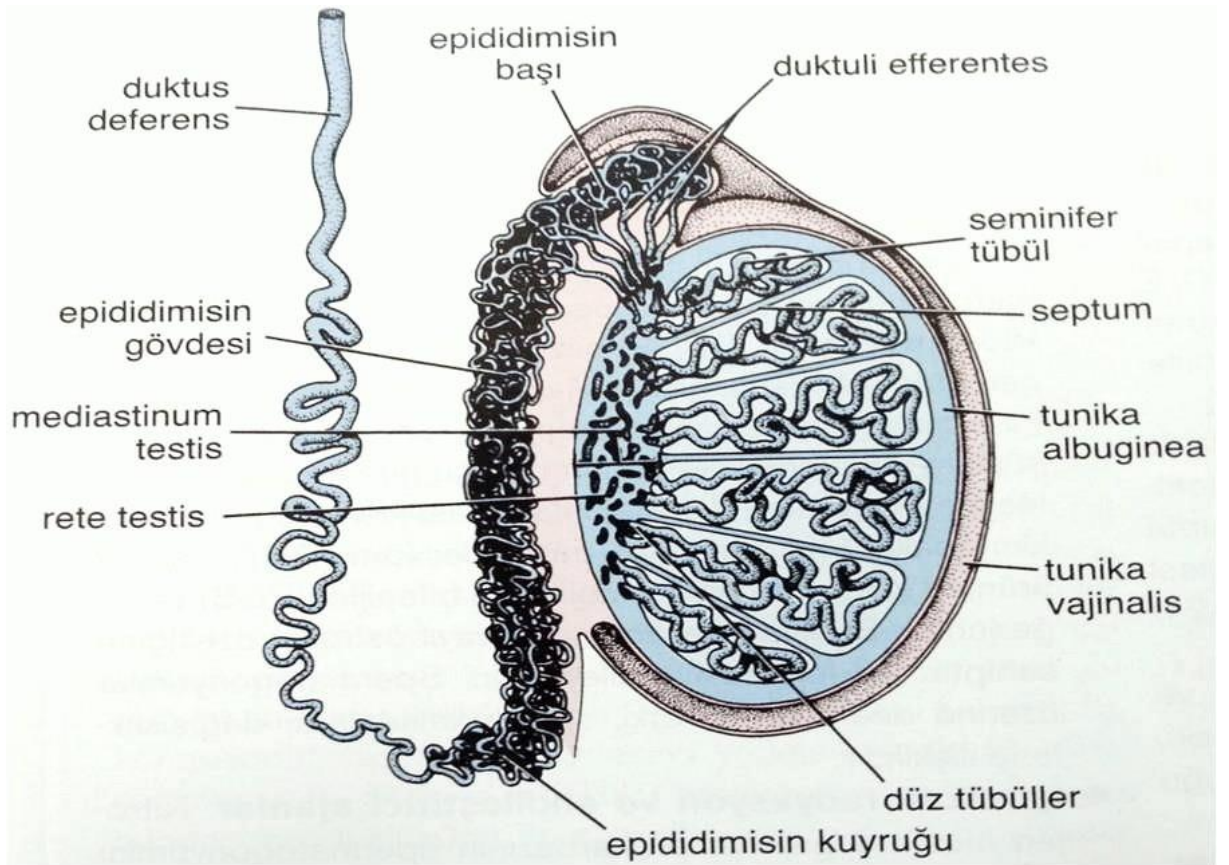
Yukarıdaki bilgiler ışığında özellikle hazır gıda, bisküvi, kraker vs tüketimi yaygınlaştığından ve sebze ve diğer bitkisel besinlerin pişirilmesinde potansiyel tehlikeler olduğu saptandığından gıda güvenliğine dikkat edilmesi gerekmektedir. Özellikle kanserojen olması nedeniyle akrilamidin oluşması ve vücuda alınması engellenmelidir. Bu çalışmamızda Akrilamidin testisler üzerindeki hasarlandırıcı etkisinin L-sistein ile önlenip önlenemeyeceğinin araştırılması ve elde edilecek bulgular ile akrilamidin testisler üzerindeki zararlı etkilerinin azaltılması amaçlanmaktadır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Testisin Anatomisi

Testisler funikulus spermaticusa asılı olarak skrotum içine yerleşmiş, sperm üreten bir çift erkek üreme organıdır. Kıvrımlı bir deri kesesi olan skrotumun iç yüzü septum skroti ile iki ayrı bölüme ayrılır. Testisler bu boşluklarda bulunur. Testisler oval şekilli olup yetişkinlerde yaklaşık 4-5 cm uzunluğunda, 2,5 cm eninde ve 3 cm anterioposterior çaptadır. Ağırlığı 20-30 g'dir. Arka kenarına funikulus tutunmuştur. Arka kenarın yan kısmına bağlanmış olarak epididimis bulunur. Bezin üst ucu öne doğru hafifçe eğilmiştir (Şekil 2.1).

Testislerin skrotum içindeki duruşları vertikal olmayıp organın uzun eksenini yukarıdan aşağı ve önden arkaya eğik, sol testis sağ testise göre biraz daha aşağıdadır. Böylece günlük hareketlerde rahatsızlık verici çarpmalar olmaz (Fahri, 1999; Figen, 2003; Snell, 1998).



Şekil 2. 1 Testisinin sagittal kesiti (Ross & Pawlina,2013).

Normal spermatogenez karın boşluğundaki ısıdan daha düşük ısıda bulunmasıyla gerçekleşebilir. Testisler skrotumda yerleştikleri zaman karın ısısından 2, 3°C daha düşük ısıda bulunurlar. Bu sıcaklık spermatogenez için önemlidir ama hormon üretimini etkilemez. Skrotum içindeki testis ısısı musculus cremaster ve dartosun kasılmalarıyla refleks olarak derinin yüzey alanı ve vücuda yakınlığı değiştirilebilir. Funikulus spermaticus içindeki vena testicularisler plexus pampiniformisi oluştururlar ve arteria testicularisin dalları ile birlikte uzanırlar. Böylece testislerin ısısının sabitlenmesinde ters yönde ısı değişim mekanizması ile katkıda bulunurlar. Bu şekilde karından sıcak olarak arterle gelen kanın ısısı venler tarafından alındığından ısısı düşük kan testise ulaştırılır (Snell, 1998).

Testisin fascia medialis (iç yan yüz) ve fascia lateralis (dış yan yüz) olmak üzere iki yüzü, margo anterior (ön kenar) ve margo posterior (arka kenar) olmak üzere iki kenarı extremitates superior (üst uç) ve (üst uç) ve extremitates inferior (alt uç) olmak üzere de iki ucu vardır (Arıncı & Elhan, 1999).

Testisi dıştan içe doğru 3 tabaka çevreler; tunika vaginalis, tunika albuginea ve tunika vasküloza.

Tunika vaginalis embriyonik processus vaginalisin distal kalıntısı olan testisin büyük bir kısmını saran periton kalıntısıdır. Tunika vaginalis; skrotum'un iç yüzünü döşeyen lamina parietalis (periorchium) ve testisi saran lamina visceralis (epiorchium) olarak iki katmandan oluşur. Lamina visceralis (epiorchium), epididimis'in büyük kısmı ile arka kenarının mediyal bölümü dışında, testis'i sarar ve bu iki yapıyı birbirine bağlar. Lamina parietalis (periorchium), periton'un fascia spermatica interna'yı döşeyen kısmıdır. Tunika vaginalis'in iki katmanı arasında kalan aralıkta, testislerin serbest hareketini sağlayan kaygan bir sıvı bulunur (Moore & Persaud, 2009; Singh, 2014).

Tunika Albuginea ise testisi çevreleyen kalın ve yoğun bir fibröz dokusudur. Epididimisle direk olarak temas etmediği yerlerde tunika vaginalisin viseral kısmıyla kaplıdır. Posterior olarak kalın ve vertikal bir septum oluşturmak üzere kalınlaşır ve mediastinum testisi oluşturur. Mediastinum testis, organa damar, sinir ve kanalların girip çıktığı bölgedir. Mediastinum testisten çıkan uzantılar, testis parankiminden geçerek tunica albuginea'nın iç yüzüne ışınal uzanır ve organı piramidal şekilli 200-300 lopçuğa ayırır. Her bir lopçuk 1-4 arası spermatozoa üreten çok katmanlı, kalın bir germinal epitelle çevrili seminifer tübül denilen kıvrıntılı tübülleri içerir. İnce, ipliksi tarzda dizilmiş seminifer tübüller mediastinumdan geçerken düz tübülleri oluştururlar. Düz tübüller spermatozoa üretmezler. Spermatozoaları bir kanal ağı yapısı olan rete testise iletirler. Daha sonra rete testis epididimisin üst ucuna sayıları 12-15 kadar olan ductuli eferentesle ulaşır (Şekil 2.1) (Singh, 2014).

Tunika vasküloza testisin damar ağından oluşturur. Tunika albugineanın iç tüzünü örter (Singh, 2014).

İnternal spermatik arter, deferensiyal arter ve eksternal spermatik veya kremasterik arter olmak üzere testisin arterleri 3 kaynaktan köken alır. Renal arterlerin hemen altındaki abdominal aorttan internal spermatik arter çıkarak spermatik korddan geçer ve testise gelir. Spermatik kordondan çıktıktan sonra arterler pleksus pampiniformise yakın ilerlerler. Pleksus pampiniformis, venlerin testisten çıktıktan sonra birbirleriyle yaptıkları yoğun anastomoz ve kıvrılmalarla meydana gelen bir ven topluluğudur. Testis arterleri testise çok sayıda dal halinde girerler. Mediastinum bölgesinden testise girdikten sonra çok sayıda dallara ayrılarak parankim içinde yayılırlar (Gray, 2001; Moore & Persaud, 2009; Singh, 2014; Yalcin, Komesli, Ozgok, & Ozan, 2005).

Testis içerisinde venler arterlerle aynı yolu izlemezler. Parankimdeki venler yüzeysel venlere veya mediastinum yakınındaki venlerden birine açılırlar. Pleksus pampiniformisi oluşturmak üzere bu iki grup ven deferensial ven ile birleşirler. Buradan çıkan internal spermatik venler sağda vena kava'ya açılırken sol tarafta ise renal vene ilerlerler. Damarı ince olmasının yanında spermatik ven az miktarda kas bulundurur (Gray, 2001; Moore & Persaud, 2009).

Spermatik kord içerisinde devam eden lenf damarları testis seminifer tübülleri arasından yani interstiyel alandan köken alır. Seminifer tübüllerde lenfatik damarlar yoktur (Gray, 2001; Singh, 2014).

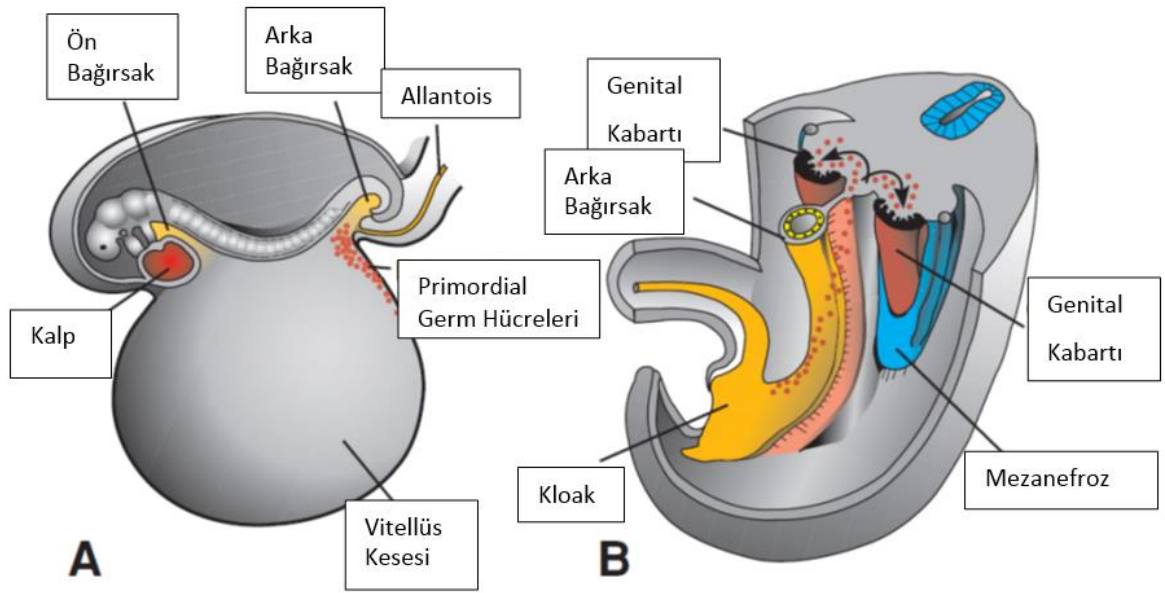
Renal pleksus ve intermezenterik otonom sinir sistemi testisin innervasyonunu sağlarken, testisin somatik innervasyon yoktur. Testis sinirleri testis arterleri boyunca testise ulaşır. Leydig hücrelerini besleyen damarlarda adrenerjik sinir lifleri vardır (Gray, 2001).

2.2. Testisin Embriyolojisi

Cinsiyetin farklanması, bir kısmı otozomal olan birçok geni içine alan karmaşık bir süreçtir. Cinsiyetin ikiye ayrılmasındaki anahtar cinsiyeti belirleyen bölgesinde (sex determining region=SRY) testis belirleyici faktör (testis determining factor=TDF) genini taşıyan Y kromozomudur. Embriyonun cinsiyeti, genetik açıdan ovumu döleyen sperm çeşidi ile belirlenmiştir. Gelişimin 7. haftasına kadar gonadlarda erkek veya dişi morfolojik özellikleri gelişime başlamaz. Gelişimin erken döneminde her iki cinsiyette de genital sistem birbirine benzer, bundan dolayı gelişimin bu evresi cinsel gelişimin farklanmamış safhası olarak adlandırılır. Testis veya overlere farklanacak olan gonadlar posteriyor abdominal duvarın mezoteli

(mezodermal epitel), altındaki mezenşim (embriyonik bağ dokusu) ve primordiyal germ hücreleri olmak üzere üç kaynaktan köken alırlar.

Başlangıçta gonadlar bir çift uzunlamasına kölomik epitelin proliferasyonu ve altındaki mezenşimin yoğunlaşmasıyla oluşmuş genital veya gonadal kabarıklık halinde belirirler. Gelişimin 6. haftasına kadar genital kabarıklıklar içinde germ hücreleri mevcut değildir. Primordiyal germ hücreleri insan embriyosunda gelişimin 3.haftası sonu, 4. haftanın başında vitellüs kesesinin allantoisin başlangıç yerine yakın duvarındaki endoderm hücreleri arasında ortaya çıkarlar. Bu hücreler vitellüs kesesinden, gelişmekte olan gonadlara amipsi hareketlerle son bağırsağın mezenterinin dorsalı boyunca ilerleyerek 4. haftanın sonu veya 5. haftanın başında primitif gonadlara ulaşır ve 6. haftada da gonadal kabarıklıkları işgal ederler (Şekil 2.2) (Creasy & Chapin, 2013; Hecht, 1998; Moore & Persaud, 2009; Sadler, 2005).



Şekil 2. 2 A. Vitellüs kesesinin allantoise yakın duvarında primordiyal germ hücrelerini gösteren 3 haftalık bir embriyo. **B.** Arka bağırsak ve dorsal mezenter boyunca primordiyal germ hücrelerinin genital kabarığa göç ederken izlediği yol (Sadler, 2005).

Eğer gelişmekte olan gonadlar Y kromozomuna sahipse erkek fenotip gelişir (Moore & Persaud, 2009; Sadler, 2005). Testislerin gelişimi birbirleriyle bağlantılı bir şekilde birçok genin indüksiyonuyla olur (Thompson, McInnes, & Willard, 1991). Testis belirleyici faktörü (TBF) kodlayan Y kromozomunun etkisiyle, primitif cinsiyet kordonları çoğalmaya devam ederler, medullanın iç kesimlerine ilerleyerek medullar kordonları

oluştururlar. Bu kordonlar, bezin hilusuna doğru ince hücre sıralarından ibaret bir ağ şekline dönüşürler. Testis kordonları yüzey epiteliyle olan bağlantılarını gelişimin daha ileri devrelerinde kaybederler. Daha sonra, testisin tipik bir özelliği olan tunika albuginea adlı yoğun fibröz bir bağ dokusuyla epitelden ayrılmış olurlar. Dördüncü ayda testis kordonları at nalına benzer ve bu at nalının uçları rete testis ile devam eder. Bu durumda artık, testis kordonları primitif germ hücreleri ve bezin yüzey epitelinden köken almış Sertoli hücrelerinden meydana gelmiştir (Hecht, 1998; Moore & Persaud, 2009; Stadler vd., 2002).

İnterstisyel Leydig hücreleri, gonadal kabarıklığın orijinal mezeneşiminden köken alır. Testis kordlarının arasında bulunurlar ve bu kordların farklanmaya başlamasından hemen sonra gelişmeye başlarlar. Gebeliğin 8.haftasında, Leydig hücreleri, androjenik hormonları (testosteron ve androstenedion) salgılamaya başlarlar. Bu hormonlar mezonefrik kanalların ve dış genital organların erkek olarak farklanmasını indükler. Testosteron üretimi, insan koryonik honadotropin (hCG) hormonu uyarır. Hormonun miktarı 8-12 haftalık dönemde en yüksek değerine ulaşmıştır. Artık testisler genital kanal ve dış genital organların cinsiyete göre farklanmasını etkileyecek hale gelmiştir. Puberteye kadar solid halde kalan kordların pubertede lümenleri açılarak seminifer tübülleri oluştururlar. Seminifer tübüller bir kere kanalize olduktan sonra, rete testis tübüllerine katılır ve daha sonra duktuli efferenteslere girerler. Bu efferent duktuslar mezonefrik sistemin geri kalan boşaltım tübülleridir. Duktus deferens olarak bilinen bu kanallar rete testis ile mezonefrik veya Wolff kanalları arasında bir bağlantı işlevi görürler (Habert, Lejeune, & Saez, 2001; Moore & Persaud, 2009; Sadler, 2005).

Fetüsün testislerindeki Sertoli hücrelerinden salgılanan Müllerian inhibe edici madde (MIS) veya antimüllerian hormon (AMH) olarak bilinen non-steroid madde de, paramezonefrik kanalların gelişimini baskılar. Testislerden MIS dışında, hedef doku hücrelerini etkileyen testosteron da salgılanır. Testosteron bu hücrelerde 5-alfa-reduktaz enzimiyle dihidrotestosterona dönüştürülür. Testosteron ve dihidrotestosteron hücre içinde, bu hormonlara karşı özel ve yüksek afinitesi olan bir reseptör proteine bağlanırlar. Bu hormon-reseptör kompleksi de dokuya özel genlerin ve bunların protein ürünlerinin transkripsiyonunu düzenlemek üzere DNA'ya bağlanır. Testosteron reseptör kompleksleri, mezonefrik kanalların virilizasyonuna aracılık ederken, dihidrotestosteron-reseptör kompleksleri de erkek dış genital organlarının farklanmasını sağlar (Josso, di Clemente, & Gouedard, 2001; Sadler, 2005).

Testisler 26. haftada inguinal kanal boyunca karın arka duvarında skrotuma doğru inmeye başlarlar. Bu değişiklik embriyonun boyutlarındaki uzama ve fetal pelvisin genişlemesiyle olur (Moore & Persaud, 2009). Testislerin büyümesi ve mezonefrik böbreklerin atrofisi tetislerin arka karın duvarı boyunca kaudal olarak hareketine izin verir ve processus vaginalisin büyümesi bu ilerlemede testislere rehberlik eder. Bu durum fetal

testislerce üretilen androjenlerle kontrol edilir (Wensing, 1988). Gubernakulum processus vaginalisin inguinal kanalları oluşturması sırasında, ona ön karın duvarı boyunca yol oluşturur. Gubernakulum aynı zamanda testisi skrotuma bağlar ve testisin skrotuma inişinde rehberlik yapar. Testislerin inguinal kanala geçişinde aynı zamanda karın içi organların büyümesine bağlı olarak, intraabdominal basınç artışının da rol oynadığı düşünülmektedir. Testislerin inguinal kanallardan skrotuma inişi genellikle 26. haftada başlar ve 2-3 gün devam eder. Testisler, periton ve processus vaginalis dışından geçerler. Testisler skrotuma girdikten sonra inguinal kanal spermatik kord etrafında kasılır. Terminde doğmuş yeni doğanların %97'den fazlasında, her iki testis de skrotum içerisinde bulunur. Testiküler damarlar, testisler arka karın duvarı seviyesindeyken oluşurlar. Organların skrotuma inişi sırasında duktus deferensi ve damarları da birlikte taşınırlar (Moore & Persaud, 2009; Wensing, 1988).

Testisler karın boşluğundan skrotuma bu iniş aşamasında kan damarlarını, lenfatik damarları, otonom sinirleri ve tunika vaginalis denilen testisin anterolateral yüzeyini kaplayan, abdominal peritonun uzantısını da beraberinde taşırlar (Ross & Pawlina, 2011; Wensing, 1988).

Testisler doğumdan sonra sadece spermatogonyaya içerirler. Puberteye kadar spermatogenez olmaz. Pubertede testosteron hormonu miktarı artar, seminifer tübül lümeni oluşur ve spermatogenez başlar (Ross & Pawlina, 2011) .

2.3. Testisin Histolojisi

Erişkin testisleri karın boşluğunun dışında yerleşmiş, skrotum içinde uzanan yaklaşık 5 cm uzunluğunda ovoid yapılı çift organlardır. Testis vaza deferens, spermatik arter, venöz ve lenfatik pleksusları içeren spermatik kordonla asılıdır. 3 tabakayla sarılır: sıkı fibröz bir tabaka olan tunika albuginea, seröz bir tabaka olan tunika vaginalisin viseral tabakası ve tunika vaginalisin paryetal tabakası. Tunika vaginalisin tabakaları seröz bir sıvıyla birbirinden ayrılır. Bu sıvı testisin skrotal kesede hareketine izin verir. Testislerin tunika albuginea adında kalın ve sıkı bir bağ dokusu kapsülü testisi sarar. Kapsülün iç kısmı kan damarlarını içeren, gevşek bağ dokusundan oluşan tunika vaskulozadır. Herbir testis kapsülden çıkan septalarla yaklaşık olarak 200-300 lopçuğa bölünür.

Testisin herbir lopçuğu 1-4 arası seminifer tübül ile bağ dokusu yani stromadan oluşur. Seminifer tübüller sperm üretim yeriye, bağ dokusu Leydig (interstisyel) hücrelerini içeren bölümdür. Herbir tübül lopçuğun içerisinde kendi üzerine katlanarak kıvrımlı bir yapı oluşturur. Tübüller arka testise doğru birleşirler ve içeriklerini rete testis kanal ağına boşaltırlar. Testisin arka kısmında damarların ve sinirlerin girip çıktığı bölge tunika albugineanın kalınlaşarak oluşturduğu mediastinum testistir.

Burası tunika vaginalisle sarılmaz ve rete testisi içerir. Rete testis seminifer epitelyumun ürünlerini toplayan kanallar ağıdır. Sperm seminifer tübül lümenine bırakılır, sonra dolambaçlı bir yol izleyerek rete testis, duktuli eferentes epididimis, vas deferans, ejakülator kanal, üretra ve penise gelir. Ejakülator kanal ve üretradan geçerken yardımcı bezler olan veziküla seminalis, prostat bezi ve bulboüretal bezlerin salgılarıyla birleşir (Kierszenbaum, 2006; Netter, 2010; Ovalle & Nahirney, 2009; Ross & Pawlina, 2011).

2.3.1. Seminifer tübüller

Seminifer tübül 30-80 cm uzunluğunda ve 150-250 µm çapındadır. Her testiste 250-1000 seminifer tübül bulunur. Bir testisteki tübüllerin toplam uzunluğu yaklaşık 250 metredir. Seminifer tübüller ince bir tunika propria tarafından sarılmış kalın bir seminifer epitelinden oluşur. Seminifer epitel bir bazal membran ile kollajen lifler, fibroblastlar ve kasılabilir miyoid hücrelerden oluşan duvarla çevrelenmiştir. Seminifer epitel 2 ana hücre popülasyonundan oluşur: somatik Sertoli hücreleri ve spermatogenik hücreler (spermatogonya, spermatozoidler ve spermatidler, Şekil 2.3). Bazal membrana en yakın olan hücreler spermatogonyadır. Yuvarlak çekirdekli ve kromatini spagettiye benzeyen daha büyük hücreler primer spermatozoidlerdir. Sekonder spermatozoidler seyrek görülür, oluşur oluşmaz bölünerek spermatidleri oluştururlar. Dönüşüm döneminde Sertoli hücrelerine tutunurlar. Sertoli hücreleri tabanı bazal membrana oturur; serbest uçları yayılarak uzanır ve lümeneye ulaşır. Erken ve geç olarak adlandırılan spermatidler bölünmeksizin lümen bırakılır. Seminifer tübüller kıvrımlıdır ve uçlarına doğru lümeni daralarak düz tübüller ya da tubuli rekti olarak anılan kısa segmentler halinde kangallar şeklinde uzanır. Bu düz tübüller, seminifer tübüllerini rete testis denilen, epitel ile döşeli kanalların oluşturduğu bir labirente bağlar. Anostomoz yapan rete testis kanalları yaklaşık 10-20 adet duktuli eferentes ile epididimisin baş kısmına bağlanır (Gartner & Hiatt, 2007; Junqueira & Carneiro, 2009; Kierszenbaum, 2006; Ovalle & Nahirney, 2009; Ross & Pawlina, 2011).

2.3.1.1. Miyoid hücreler

Miyoid hücreler, insanda, seminifer tübül bazal laminaına yapışık en içteki katmanda 3-5 sıra halinde yer alan düz kas özelliği gösteren yassılaştırmış hücrelerdir. Kemirgenlerde ise tek tabaka halinde epitelsi bir diziliş gösterirler. Çok sayıda aktin filamanları ve granüllü endoplazmik retikulumları vardır. Fibroblastların yokluğunda kollajen lifi sentezi yaparlar. Bu hücrelerin ritmik kasılmaları hareketsiz spermleri rete testise ilerleten peristaltik dalgaları oluşturur. Spermler epididimal kanaldan geçtikten sonra ileri motilite özelliklerini kazanırlar (Junqueira & Carneiro, 2009; Kierszenbaum, 2006; Ross & Pawlina, 2011).

2.3.1.2. Sertoli hücreleri

Seminifer hücre epitelinin baskın hücre tipi puberteye kadar Sertoli hücreleridir. Ancak puberteden sonra seminifer tübüleri döşeyen hücrelerin yalnız %10'unu oluştururlar. İleri yaşlarda erkeklerde spermatogenik hücre popülasyonu yine düşer ve Sertoli hücreleri tekrar baskın hale gelir.

Prizmatik hücre olan Sertoli hücreleri bazal laminadan seminifer tübül lümenine kadar uzanır. Seminifer tübül lümeni ve tübüller arası boşluk arasında köprü hücreler olarak görev yaparlar. Gelişmekte olan spermatogenik hücrelere kriptalar sağlayarak ev sahipliği yaptıklarından, apikal ve lateral hücre membranlarının düzensiz sınırları vardır. Açık renkte boyanan çekirdeği belirgin ve geniş bir çekirdekçik içerir. Sertoli hücrelerinin çekirdekleri olukludur. Sitoplazma düz ve granüllü endoplazmik retikulum, mitokondriyonlar, lizozomlar, yağ damlacıkları, yaygın bir Golgi aygıtı ve zengin bir hücre iskeleti (vimentin, aktin, mikrotübüller) içerir.

Bazolateral bölgelerinde, Sertoli hücreleri komşu Sertoli hücreleri ile tıkayıcı bağlantıları oluştururlar. Bu bağlantılar seminifer epiteli bazal ve adluminal olarak iki kompartımana ayırır ve aynı zamanda vücuda yabancı olan gelişmekte olan spermatozoidler ve spermatidleri otoimmün reaksiyonlardan ve kanda bulunan diğer yabancı maddelerden koruyan kan-testis bariyerini oluştururlar. Sertoli hücreleri bağlantıları ektoplazmik özelleşmeler olarak adlandırılan bölgelerde aktin filamanları ve endoplazmik retikulumuyla sıkı bir ilişki gösterir. Bu özelleşmeler spermin lümenine doğru hareketi sırasında bağlantının yapısındaki değişikliklere uyumu sağlayan yapılardır.

Sertoli hücrelerinin yerine getirdiği fonksiyonlar arasında spermatogenik hücreleri desteklemek, korumak ve beslemek, spermiyogenez sonucunda spermatidler tarafından atılan rezidual cisimcikleri fagositoz ile elimine etmek, olgun spermatidlerin aktin-aracılı kasılmalarla, seminifer tübül lümenine salınımını kolaylaştırmak, lümen proteinler ve iyonlardan zengin bir sıvı salgılamak sayılabilir. Aynı zamanda Sertoli hücreleri FSH (folikül uyarıcı hormon) uyarımına cevap vererek, ABP (androjen-bağlayıcı protein) sentezini ve salınımını düzenlerler. ABP testosteron ve dihidrotestosteron androjenlerine yüksek bağlanma afinitesinde olan salgısal bir proteindir ve epididimisin proksimal kısımlarına taşınır. Ayrıca Sertoli hücreleri inhibin ve aktivin salgırlar. İnhibin hipotalamustan ve ön hipofizden salınan gonadotropin salgılatıcı faktör ve FSH üzerine negatif feedback etki gösterir. Aktivin ise FSH üzerine pozitif feedback bir etki gösterir (Kierszenbaum, 2006; Ovalle & Nahirney, 2009; Tekelioğlu, 1999).

2.3.1.3. *Spermatogonya*

Seminifer túbülün bazal kompartımında bazal laminaya bitişik bulunan diploid spermatogenik hücrelerdir. Sertoli hücreleri arasında bulunan tıkayıcı bağlantıların altında bulduklarından kan-testis bariyerinin dışındadırlar. Yaklaşık 12 µm çapındadırlar. Üç çeşidi vardır: tip A koyu spermatogonya, Tip A açık spermatogonya ve tip B spermatogonya. Tip A spermatogonya ovoit şekilli ve heterokromatiktir. Rezerv hücrelerdir. Mitoz bölünmeyle daha fazla tip A koyu spermatogonya ve hatta tip A açık spermatogonya oluştururlar. Tip B spermatogonyanın tip A spermatogonyadan farkı çekirdekleri ökromatiktir ve daha açık boyanır. Organelce fakirdirler. Mitokondrisi, sınırlı sayıda golgi kompleksi, birkaç tane düz endoplazmik retikulumu ve çok sayıda serbest ribozomu vardır. Testosteronun etkisiyle bölünürler ve tip A açık spermatogonya veya tip B spermatogonya oluştururlar. Tip B spermatogonya tip A açık spermatogonyaya benzer. Ancak çekirdekleri daha yuvaraktır. Mitozla bölünerek primer spermatozoidleri oluştururlar. (Şekil 2.3)(Gartner & Hiatt, 2007; Junqueira & Carneiro, 2009; Kierszenbaum, 2006; Wakaizumi, Yamamoto, Fujimoto, & Ozeki, 2009).

2.3.1.4. *Spermatozoidler*

Tip B spermatogonya mitotik bölünmeler sonucu DNA eşlenmesinden sonra (S fazı) mayoz bölünmenin ilk aşamasında yer alan profaz safhasına girerler. Bu aşamada artık primer spermatozoid olarak adlandırılır ve bir spermatogonyuma göre iki kat DNA'ya sahiptir. Spermatozoidler Sertoli hücrelerinin tıkayıcı bağlantılarının hemen üzerinde, seminifer túbülün adluminal kompartımındadır, yani kan-testis bariyerinin içindedirler. Bir primer spermatozoid birinci mayozu geçirdikten sonra iki adet sekonder spermatozoid oluşturur. Sekonder spermatozoidler hızlı bir şekilde ikinci mayozu geçirirler tekrar eşit bölünürler. Sonunda her bir sekonder spermatozoidten iki adet spermatid oluşur.

Bölünmeler sonunda spermatogonyumun DNA miktarı 2C düşünülürse, primer spermatozoid 4C DNA, sekonder spermatozoid 2C DNA ve spermatidlerin herbiri 1C DNA içerir. Birinci mayoz bölünme uzun, ikinci mayoz bölünme çok daha kısadır. Bundan dolayı primer spermatozoidler seminifer túbüllerde çok daha fazla görülür. Bundan sonraki evrelerde spermatidlerin spermiyogenez denilen ve spermatozoa olana dek geçirecekleri farklılaşma evresi başlar (Kierszenbaum, 2006; Richard & Lopez, 2013).

2.3.2. İnterstisyel alan

Seminifer túbüller arasındaki boşluk interstisyel alan olarak adlandırılır. İnterstiyel alan testis fonksiyonu için son derece önemli yapıları içerir. Burası küçük kan damarları, kapillerler, küçük venler, lenfatik kanallar veya sinüzoidler, makrofajlar, mast hücreleri, fibroblastlar, sinirler ve androjen üreten Leydig hücre grupları tarafından doldurulmuş sıkı ve gevşek bağ dokusudur. Testisin kan-testis bariyerinin dışında kalan kısmıdır.

Leydig hücreleri gevşek topluluklar halinde kan damarları çevresinde düzenlenmiş kuvvetli asidofilik hücrelerdir. Leydig hücreleri dışında kalan alanlarda interstisyel sıvıyı (kapillerlerden kaynaklanan ultrafiltrat) taşıyan lenfatik sinüsler bulunur. Lenfatik sinüsler bu sıvıyı lenfatik sisteme verirler. Lenfatik sistem de spermatik kord aracılığıyla testisi terkeder.

İnterstisyel alanın anatomik yapısı ve miktarı türden türe değişmektedir. Mesela kemirgenlerde testisin %15'i interstisyel alanken, insanda %25-30'u ve domuzda ise %40'ıdır.

İnterstiyel alanda kan damarlarıyla gelen oksijen, glukoz ve hormonlar kan damarlarından difüzyon yoluyla bazal membran aracılığıyla seminifer túbüllere geçer. Bu maddeler germ hücreleri için çok önemlidir, çünkü seminifer túbüllerde kan damarları bulunmamaktadır. Diğer taraftan, bazal membran ve kan testis bariyeri bir engel olarak davranarak büyük molekülleri kandan túbüllere geçirmezler. Artık maddeler ise bazal membranla interstiyel alana geçer ve buradan küçük venlerle testisten uzaklaştırılırlar (Creasy & Chapin, 2013; Kierszenbaum, 2006; Richard & Lopez, 2013; Tekelioğlu, 1999).

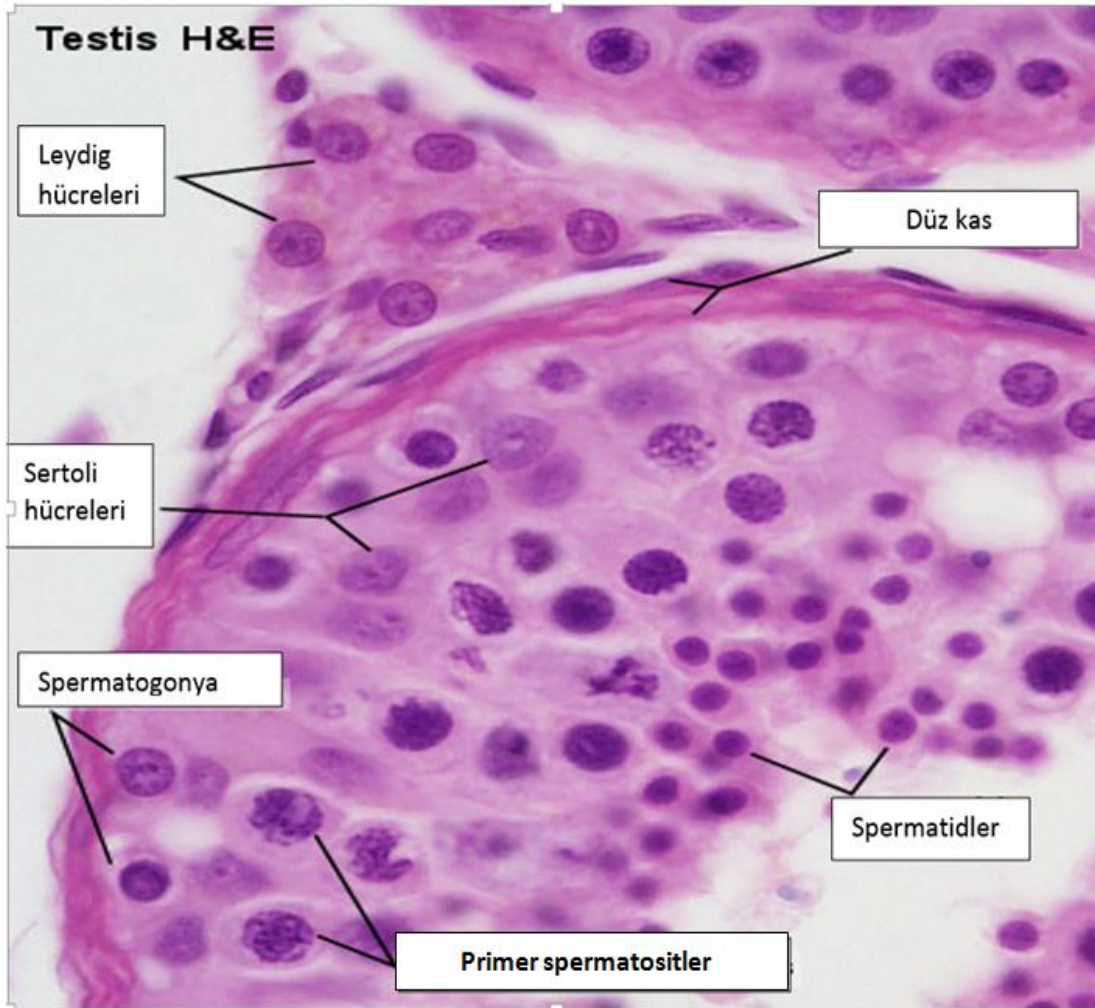
2.3.2.1. Leydig Hücreleri

Tipik olarak yağ damlacıklarını içeren, büyük, poligonal şekilli, köpüksü görünüme sahip ve eozinofilik hücrelerdir. Hücre yüzeylerinde çok sayıda mikrovillüs vardır ve çekirdek merkezin dışında yerleşir. Reinke kristallerinin yanında birçok lipofuskin pigmenti içerirler. Çoğunlukla pencere kapillerler ve küçük lenf damarlarına yakın yerleşirler.

Leydig hücreleri hipofiz bezinden salınan bir gonadotropin olan LH tarafından uyarılır. LH kolesterol desmolazı aktivitesini arttırır. Kolesterolu pregnenolona çevirerek, testosteron sentezini başlatır.

Leydig hücreleri erken ftal yaşamda farklılaşırlar ve testosteron üretirler. Testosteron, öncülü olan kolesterolden trer. Testosteron ya düz endoplazmik retikulum zarlarında sentezlenmekte ya da dolaşımdaki düşük yoğunluklu lipoprotein moleküllerinden türemektedir. Testosteronun salınımı embriyonik gelişme, cinsel olgunlaşma ve üreme için gereklidir. Embriyoda; testosteron ve diğer androjenlerin salınımı erkek fetüsünde gonadların normal gelişimi için önemlidir. Pubertede; testosteron salınımı sperm üretimi, yardımcı bezlerin salgısı ve ikincil cinsiyet karakterlerinin gelişiminden sorumludur. Yetişkinlerde ise testosteron salınımı diş genital kanallar, yardımcı bezler ve spermatogenez ve ikincil cinsiyet özelliklerinin devamı için önemlidir.

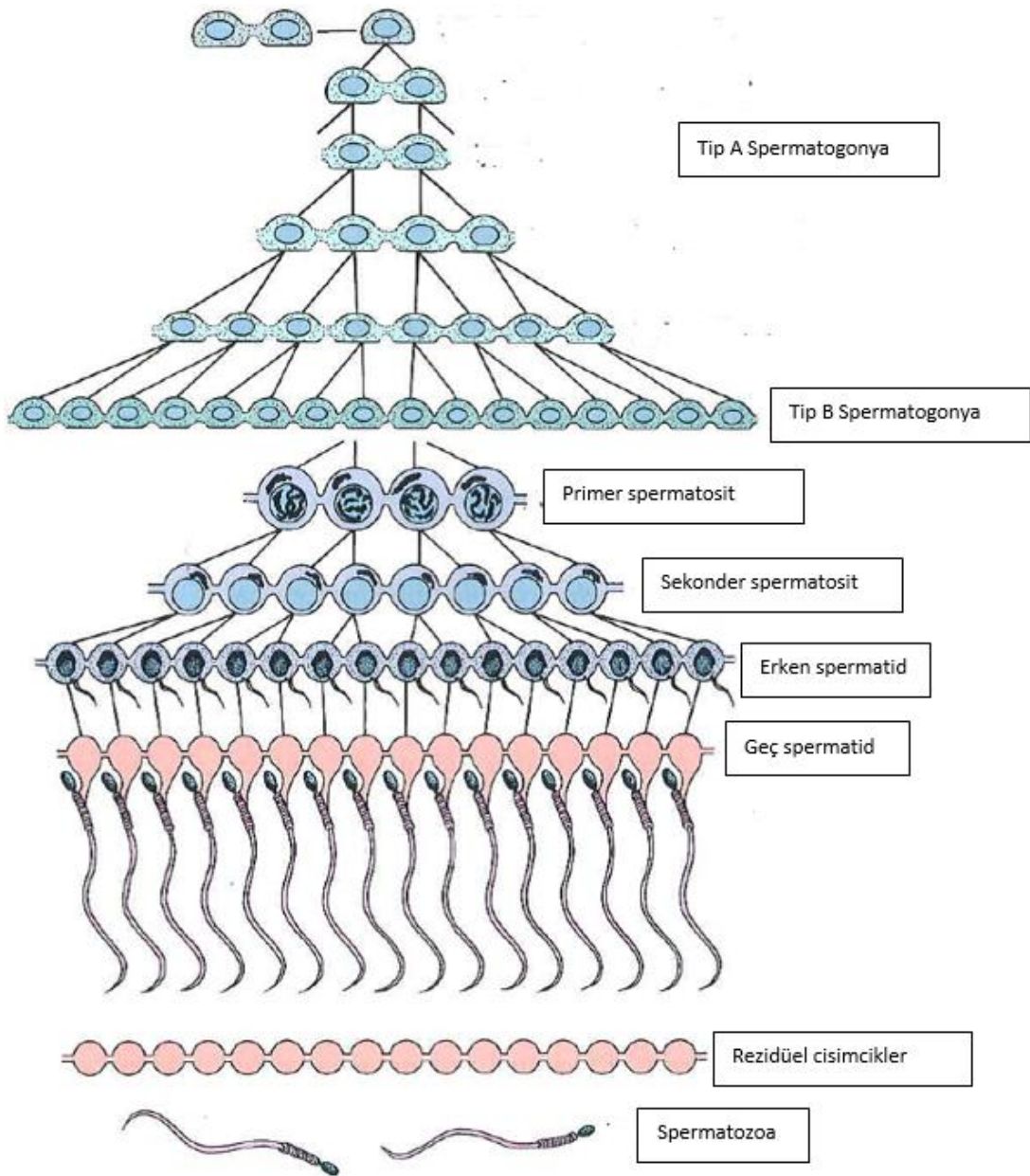
Leydig hücreleri erkek fetüsün ilk farklılaşma evrelerinde aktiftir. Ftal yaşamın yaklaşık olarak 5. ayından itibaren inaktif olur. Bu evrede Leydig hücreleri fibroblastlara benzerler. Pubertede gonadotropik uyarımla beraber tekrar aktif olurlar, androjen salgırlar ve hayat boyu aktif kalırlar (Ovalle & Nahirney, 2009; Ross & Pawlina, 2011; Svechnikov vd., 2010).



şekil 2. 3 Testisin histolojik görüntüsü (ztrk, 2013; H-E boyası)

2.3.3. Spermatogenez

Spermatogonyanın sperme farklılaştığı süreçtir. Bir dizi karmaşık ve kendine has olayı içerir (Şekil 2.4). Gonadotropinlerin salınımıyla hemen puberte öncesi başlar ve tüm yaşam boyunca devam eder. İnsanda spermatogonya fazından spermiasyona kadar 64 gün sürer. Eğer spermatogonyanın bölünme evresi de hesaba katılırsa yaklaşık olarak 74 gün sürer (Junqueira & Carneiro, 2009; Richard & Lopez, 2013; Ross & Pawlina, 2011).



Şekil 2. 4 Spermatogenezin aşamaları (Ross & Pawlina, 2011, s.794)

2.3.3.1. Spermatoğonya fazı

Spermatoğonya fazında spermatoğonya kök hücreleri birçok mitoz bölünme geçirirler ve spermatoğonya hücre dizisini yaparlar. Tip A spermatoğonyanın ovoit bir çekirdek ve bazılarının koyu bazılarının açık bir sitoplazması vardır. Tip B olanların ise ortada yuvarlak bir çekirdekleri vardır. Spermatoğonyanın bölünme evresi insanda yaklaşık 10 gün sürer (Richard & Lopez, 2013; Ross & Pawlina, 2011).

2.3.3.2. Spermatozitosit fazı (mayoz bölünme)

Tip B spermatoğonya mitoz bölünme geçirerek spermatozitositleri oluştururlar. DNA'larını mayoz bölünmeden önce çoğaltırlar. Böylece herbir primer spermatozitosit normal kromozom sayısı içerir ve DNA'larını iki katına çıkarırlar. Birinci mayoz sonucunda kromozom sayısı ve DNA miktarı yarıya iner. Oluşan kromozom haploid sayıda kromozom içerir. İkinci mayoz da DNA çoğalması olmaz. Herbir spermatozitosit haploid kromozom ve tek kromatid içerir. Bu fazda primer spermatozitositler kromozom sayısını ve DNA içeriğini azaltmak için mayoz geçirirler.

Birinci mayoz bölünmenin profazında, kromatin yoğunlaşır ve görünür hale gelir. Bu insanda 22 gün sürer. Bu esnada primer spermatozitositler geçici bir süreyle bazı sitokinlerin (TNF α ve TGF β 3) yardımıyla Sertoli hücreleri arasındaki tıkaçıcı bağlantıları bozarlar ve ilerlerler. Metafaz evresinde homolog kromozomlar birbiriyle eşleşirler ve 4 kromatidli tetradları oluştururlar. Aralarında crossing-over denen genetik materyal değişimi gerçekleşir. Bu değişim esnasında 4 kromatit üç parçalı olarak görünür. Bu şekline sinaptonemal kompleks adı verilir. Bu komplekste kromatitler geçici olarak kırılır ve tekrar birleşir. Böylece kromozomlar ayrı kutuplara gitmeden önce genetik çeşitlilik sağlanır. Aynı zamanda herbir spermatozitositten 4 farklı haploid, yuvarlak spermatozitosit üretilir. Crossing over sonrası homolog kromozomlar ayrılırlar ve iğ iplikçikleriyle farklı kutuplara çekilirler. Kromozomların kutuplara çekilme olayı rastgele gerçekleşir. Bu durum oluşan spermin genetik çeşitliliğine katkıda bulunur.

Birinci mayotik bölünme sonucunda oluşan hücrelere sekonder spermatozitosit denir. Bu hücreler yeniden DNA sentezlemeden S fazına girmeden doğrudan ikinci mayozun profazına girerler. Metafaz esnasında kardeş kromatitler ayrılırlar. Çekirdek zarı tekrar oluşur ve 23 kromozomu 2 adet haploid spermatozitosit oluşur (Gartner & Hiatt, 2007; M. H. Johnson, 2013; Richard & Lopez, 2013; Ross & Pawlina, 2011).

2.3.3.3. *Spermiyogenez*

Spermatid hücrelerinin farklılaşarak olgun spermelere dönüşmesi ve lümenine salınmasına spermiyogenez denir. İkinci mayoz bölünmeyle beraber her bir spermatid haploid (n) sayıda kromozom içerir. Tekrardan bir bölünme olmaz. Haploid spermatidler olgun spermatidlere dönüşürler ve bu dönüşüm esnasında kromozom sayısı değişmez. Döllenme sonunda da normal diploid ($2n$) hücre sağlanır. Spermiyogenez akrozom oluşumu, çekirdek yoğunlaşması ve uzaması, flagella gelişmesi, fazla sitoplazmanın atılması evrelerini içerir. Bu değişim evresinde spermatidler Sertoli hücrelerine özel bağlantılarla bağlı bulunurlar (Şekil 2.5) (Gartner & Hiatt, 2007; Junqueira & Carneiro, 2009; Ross & Pawlina, 2011).

2.3.3.3.1. *Golgi fazı*

Bu faz spermatidin Golgi komplekslerinde biriken PAS (Periyodik asit-Schiff boyası) pozitif granüllerinin varlığıyla saptanır. Bu granüller zarlı vezikül olarak birleşirler ve çekirdek zarına yakın bir yerde akrozomal vezikülü oluştururlar. Vezikül büyüyerek içeriğini artırır. Akrozomal vezikülün olduğu yer geliştirmekte olan spermın anterior kutbu olur. Bu evrede sentriyoller spermın posterior kutbuna doğru hareketlenir ve sperm kuyruğunun aksonemini oluşturacak 9 adet periferik mikrotübül çiftleri ve 2 adet merkezi mikrotübülün oluşmasını başlatır (Gartner & Hiatt, 2007; Junqueira & Carneiro, 2009; Ross & Pawlina, 2011).

2.3.3.3.2. *Başlık fazı*

Akrozomal vezikül çekirdeğin anterior kısmında yayılır. Bu yapıya akrozomal kep denir. Akrozomal kepin altında bulunan çekirdek zarı porlarını kaybeder ve kalınlaşır. Çekirdek de yoğunlaşır (Gartner & Hiatt, 2007; Junqueira & Carneiro, 2009; Ross & Pawlina, 2011).

2.3.3.3.3. *Akrozom fazı*

Bu fazda spermatid kendini yeniden yönlendirir ve bazal laminaya doğru dönerek Sertoli hücrelerine içine gömülür. Geliştirmekte olan flagella

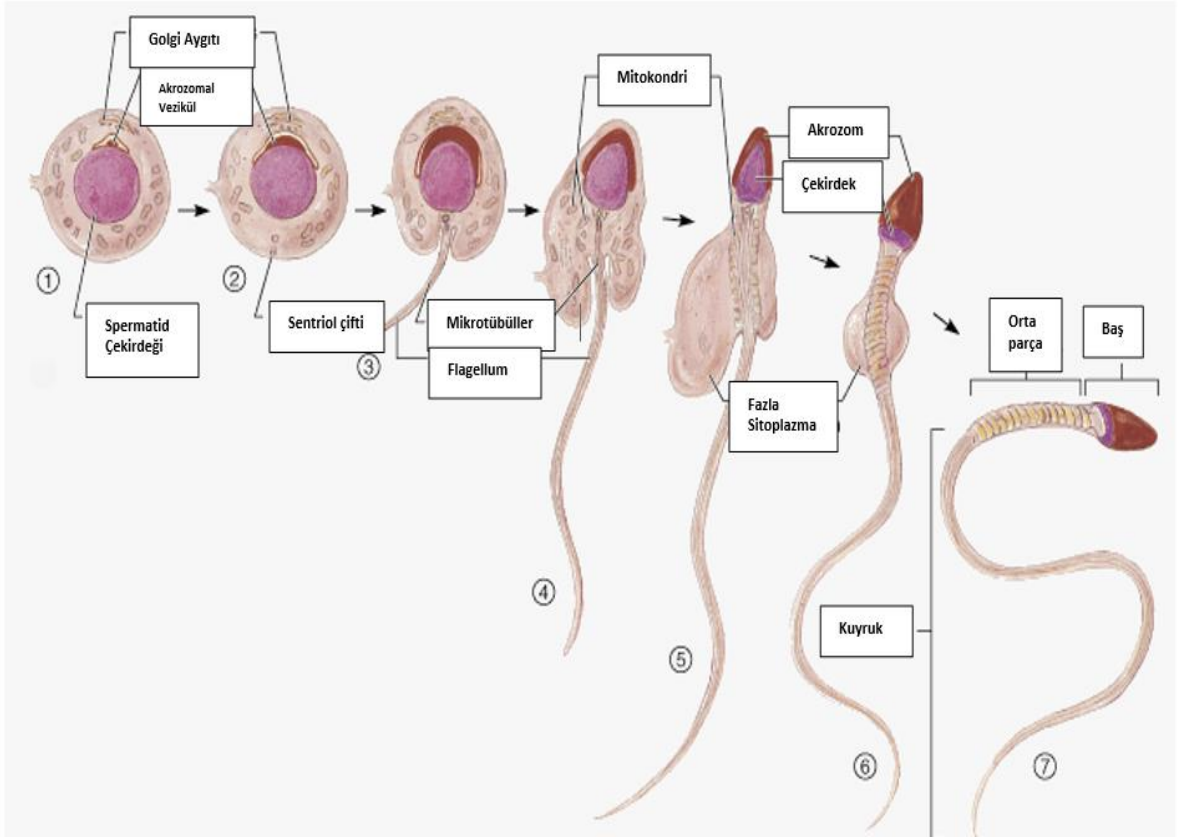
lümene doğru uzanır. Yoğunlaşmış olan spermatidin çekirdeği yassılaşıır ve uzar, akrozom ön zara yaklaşır ve sitoplazma arkaya doğru yerleşir. Sitoplazmik mikrotübül silindirik bir kılıfa dönüşür.

Daha önce flagellanın gelişimini başlatan sentriyoller bu kez çekirdeğin arka yüzeyine doğru hareket eder. Burada olgunlaşmamış sentriyoller tutunur ve spermin boynunu oluştururlar. Plazma zarı flagellayı kaplamak için arkaya doğru ilerlerken mitokondri fibrillerin üstünde helikal olarak sarılmış bir kılıf oluşturmak için hareketlenir. Bu kısma sperm kuyruğunun orta parçası denir (Gartner & Hiatt, 2007; Junqueira & Carneiro, 2009; Ross & Pawlina, 2011).

2.3.3.3.4. Olgunlaşma fazı

Bu son fazda flagellanın fazla sitoplazması olgun spermatozoa oluşması için azaltılır. Bu fazla sitoplazma veya rezidüel cisimcikler Sertoli hücreleri tarafından fagosite edilir. Spermatozoid öncesinden beri bulunan hücreler arası köprüler rezidüel cisimciklerde kalır ve spermatidler Sertoli hücrelerinden lümene salınırlar.

Geç spermatidlerin seminifer tübül lümenine salınımıdır. Bu salınma olayına spermiyasyon denir. Spermiyasyon esnasında Sertoli ve spermatidler arası bağlantılar kaldırılır. Spermiyasyonun hızı ejakülattaki sperm sayısını belirler (Gartner & Hiatt, 2007; Junqueira & Carneiro, 2009; Ross & Pawlina, 2011).

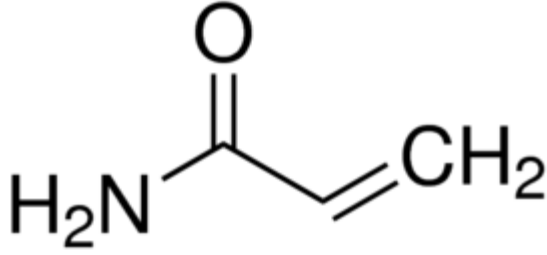


Şekil 2. 5 Spermiyogenezin aşamaları (Öztürk, 2013)

2.4. Akrilamit

2.4.1. Akrilamidin moleküler yapısı

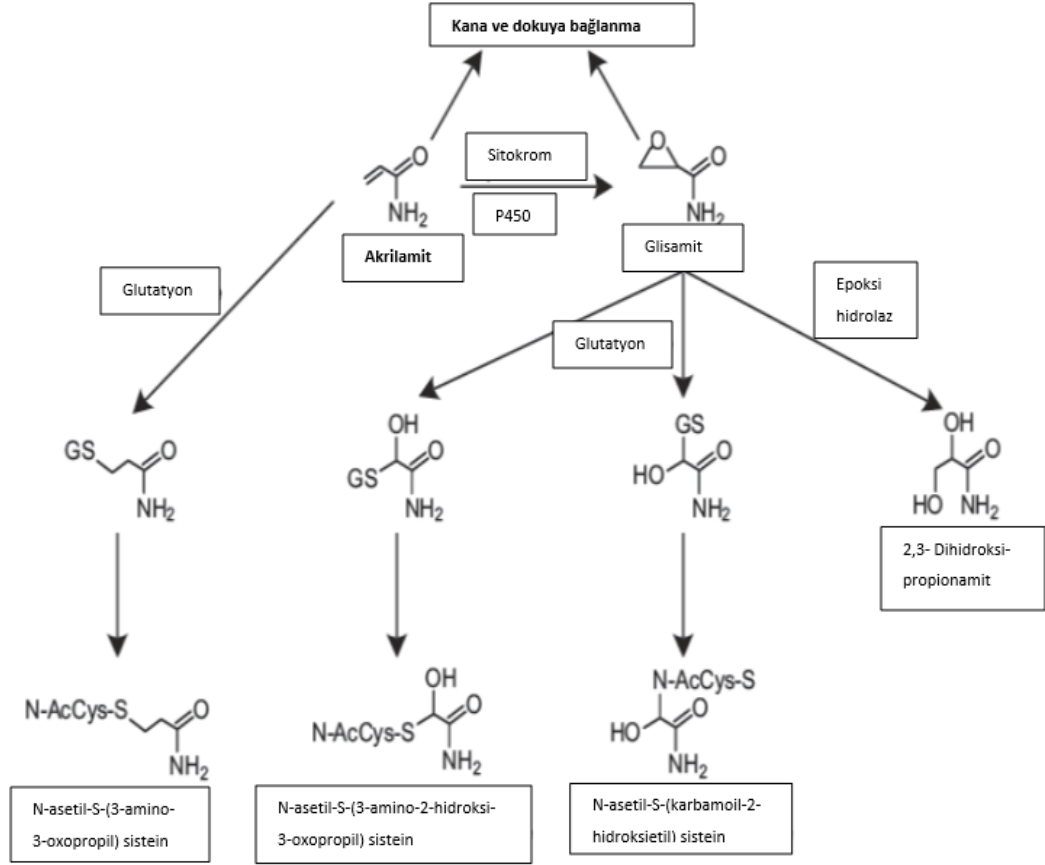
Akrilamit C_3H_5NO ($CH_2CHCONH_2$) kimyasal formülüyle bilinen bir bileşiktir. IUPAC (Uluslararası Temel ve Uygulamalı Kimya Birliği) tarafından 2-propenamid olarak adlandırılır. (Şekil 2.6). Su, eter, etanol ve kloroformda çözünür bir bileşik olup beyaz ve kokusuz kristal yapıya sahip bir maddedir. Hafif asidiktir ve yapısında vinil grubu bulunur (Eriksson, 2005; Mendel Friedman, 2003; Govaert vd., 2006; Zhang & Zhang, 2007; Zhou, Zhang, & Jing, 2007). Akrilamit sudaki çözünürlüğü 212 g/100 ml olan bir vinil monomeridir (Smith & Oehme, 1991).



Şekil 2. 6 Akrlamidin kimyasal formülü

2.4.2. Akrlamidin etki mekanizması

İnsanlar ve deney hayvanları karşılaştırıldığında başlıca akrilamidit yolakları benzer olduğu bulunmuştur (NTP-CERHR, 2005). Akrlamidit vücuda girdiğinde ilk olarak hepatik glutatyon S transferaz enzimi yardımıyla, glutatyonla konjuge olur (Kirman, Gargas, Deskin, Tonner-Navarro, & Andersen, 2003; Molak, 1991). Bu yolak en son üriner bir metabolit olan N-asetil-S-sisteine dönüşür ve bu şekilde akrilamidit vücuttan atılır. Akrlamidin bir diğer yolağı glisamite dönüşmesidir. Akrlamidin sitokrom P450 ile reaksiyonu sonucu glisamit oluşur (Kirman vd., 2003) ve yine en son N-asetil-S-sisteine dönüşerek dışarı atılır. Farede bu reaksiyona özgü enzim sitokrom P450 2E1(CYP2E1)'dir. Daha sonra glisamit yine glutatyonla konjuge olur ve merkaptürik asit oluşturur veya epoksit hidrolazla metabolize olur (Şekil 2.7) (Calleman, Bergmark, Stern, & Costa, 1993; Kirman vd., 2003). GST (Glutatyon-S-transferaz) fare ve sıçanların karaciğer, böbrek, beyin ve eritrositlerinde bulunmakla birlikte karaciğer beyne göre akrilamidi konjuge etmekte üç kat daha iyidir. Yüksek düzeylerde akrilamidit glutatyon sentezini inhibe etmektedir (HSDB, 2010; IPCS, 1985; JIFSAN/NCFST, 2004). Glutatyonun sentezinde sistein, glisin ve glutamik asit olmak üzere üç aminoasit gerekir. İlk ikisi yiyeceklerde bulunduğu halde, sistein aminoasidi yiyeceklerde fazla bulunmadığından glutatyon sentezinde sınırlayıcı substrattır. Türlere ve doza göre bu yolakların seçim yüzdesi değişmektedir (NTP-CERHR, 2005) Akrlamidin glisamite değişimi sıçanlara göre farelerde daha fazladır. Bu bulguyla uyumlu olarak 50 mg/kg oranında akrilamidit verildiğinde glisamit türevli metabolitlerin farede %59 oranında, sıçanlarda %33 oranında bulunduğu saptanmıştır. Değişmeyen glisamit miktarına bakıldığında bu oranlar fare ve sıçanlarda %16,8 ve %5,5 sırasıyla bulunmuştur (Calleman vd., 1993; IARC, 1994; JIFSAN/NCFST, 2004).



Şekil 2. 7 Akrilamidin etki mekanizması (Kirman vd., 2003)

2.4.3. Akrilamidin kullanım alanları

Akrilamid 1950'li yıllarda ticari olarak üretilmesinin ardından suyun arındırılması işlemleri, plastik, kâğıt, boya, üretimi, poliester reçine üretimi gibi pek çok işlemde, kozmetikte, jel kromatografisi ve elektroforez uygulamalarında kullanılmıştır (EHC, 2009).

2002 yılına kadar çevresel bir kontaminant olarak değerlendirilen akrilamidin aynı yıl İsveç Ulusal Gıda Örgütü (Swedish National Food Administration) ve Stokholm Üniversitesinin Upsala'da birlikte yaptıkları çalışmada ısıtılmış nişasta bazlı gıdalarda kendiliğinden oluştuğu görülmüştür (Capuano & Fogliano, 2011; Doğan & Meral, 2006; Keramat, LeBail, Prost, & Soltanzadeh, 2010; Özkaynak & Ova, 2006; Ren, Zhang, Jiao, Cai, & Zhang, 2006; E. Tareke vd., 2000).

Yüksek sıcaklıkta pişirilmiş ve özellikle nişasta bazlı gıdaların DSÖ (Dünya Sağlık Örgütü) ve GTÖ (Gıda ve Tarım Örgütü) tarafından önemli düzeylerde akrilamid içerdikleri ve insan sağlığına olumsuz etki yaptığı

2005 yılında bildirilmiştir (Jiao, Zhang, Ren, Wu, & Zhang, 2005; Zhang, Dong, Ren, & Zhang, 2006).

Çoğunlukla asparagin adlı aminoasitle glikoz ve früktoz gibi indirgen şekerlerin 120 °C üzerinde Maillard reaksiyonuna girerek daha çok patates ve tahıllarda pişirme süresiyle orantılı bir şekilde akrilamid oluşmaktadır. Akrilamid, kızartma, kavurma, fırınlama, ızgara gibi yüksek ısı uygulanan yiyeceklerde meydana gelirken haşlama, buğulama veya tütülemeye akrilamid oluşmamaktadır.

Akrilamid poliakrilamid malzemelerde de az miktarda vardır ve su ile gıdaya temas ederek bulaşabilmektedir (Tritscher, 2004).

2.4.4. Akrilamidin toksik etkisi

Akrilamidin genotoksik, klastojenik, mutajenik etkilerinin yanında nörotoksik ve üremeye etkileri de bulunmaktadır. Akrilamid elektrofil bir kimyasaldır ve amino ve tiyol grupları gibi nükleofillere karşı reaktiftir. Bu nedenle aminoasit ve proteinlerle Michael katılması reaksiyonunu gerçekleştirir. Akrilamid hemoglobinin N ucundaki valine Michael katılmasıyla bağlanır. Bu katım reaksiyonu deney hayvanlarında ve insanda akrilamid tayini için bir biyomarker olarak kullanılmaktadır (Bergmark, Calleman, He, & Costa, 1993; Eden Tareke, Rydberg, Karlsson, Eriksson, & Törnqvist, 2002). Akrilamidin in vitro koşullarda da adenin ve guanininin N halkasına bağlanarak DNA katım oluşturduğu gözlemlenmiştir (Solomon, Fedyk, Mukai, & Segal, 1985). Akrilamid vücutta kimyasal olarak reaktif bir epoksit olan glisamide dönüşür (Calleman vd., 1993; Sumner, MacNeela, & Fennell, 1992). Glisamidin epoksit grubu hemoglobine karşı akrilamitten daha reaktiftir (Birgit Paulsson, Grawé, & Törnqvist, 2002) ve glisamid DNA'ya bağlanma açısından akrilamide göre yüz ila bin kat daha reaktiftir (Segeberback, Calleman, Schroeder, Costa, & Faustman, 1995).

2.4.5. Akrilamidin kanserojen etkisi

Akrilamid 1954 yılında üretilmiş ve sanayide kullanılmaya başlamıştır. İşçilerin akrilamide maruz kalmaları sonucu hayvanlar üzerinde çeşitli çalışmalar yapılmış ve 1994 yılında Uluslararası Kanser Araştırma Kurumu (IARC) akrilamidi 2A grubu maddeler sınıfına dâhil etmiştir. 2A grubu maddeler insanlar için kanser yapma olasılığı muhtemel maddelerdir (IARC, 1994; Ruden, 2004). Akrilamidin hayvanlarda yapılan çalışmalarında birçok organda kansere yol açtığı bildirilmiştir (Dabrio vd.,

2008; Halford, Curtis, Muttucumar, Postles, & Mottram, 2011; Sharp, 2003; Tsutsumiuchi vd., 2004; Wakaizumi vd., 2009).

Uzun süreli akrilamid maruziyetine dayanan deneylerde peritestiküler mezotelyoma, tiroitte foliküler adenoma, merkezi sinir sisteminde glial tümör, ağız boşluğu papillomaları ve klitoral bez adenomalarını arttırdığı görülmüştür (M. A. Friedman, Dulak, & Stedham, 1995; K. A. Johnson vd., 1986).

Fareler ve sıçanlar üzerinde yapılan toksikolojik çalışmalarda, hayvanların gıda yolu ile belirli dozlarda akrilamide maruz kalmaları sonucu, akciğer, meme bezi, ağız boşluğu ve bağırsakta kanser riski olabileceği tespit edilmiştir (Galeša, Bren, Kranjc, & Mavri, 2008; Mucci, Dickman, Steineck, Adami, & Augustsson, 2003; Rice, 2005). Akrilamidin cilde temasında cilt kanseri, solunduğunda ise, akciğer kanseri riskini artırabileceği belirtilmektedir (Rice, 2005) .

2.4.6. Akrilamidin nörotoksik etkileri

He ve arkadaşları 1989' da akrilamid üreten fabrikalarda çalışan işçilerin üzerindeki çalışmalarında zayıf bacaklar, ayak parmaklarının ve topuğunun refleksini ve hissiyatını yitirmesi, ellerin uyuşması gibi belirtilerin görüldüğü belirtmektedirler (He vd., 1989).

Akrilamidin insan üzerinde nörotoksik etki göstermesine kanıt akrilamide maruz kalan işçilerin, periferik nöropati (his bozukluğu) belirtileri sergilemesidir (Calleman vd., 1993; Costa, 1996; Gerrard, 2006).

Yine He ve arkadaşları 1989' da uzun süreli akrilamide maruz kalınması durumunda periferik nöropati haricinde serebellar disfonksiyonun görüldüğünü belirtmektedirler (He vd., 1989). Yine bir başka sıçan deneyinde içme suyuyla verilen akrilamidin periferik nöropati oluşumu için NOAEL (gözlenebilen hiçbir yan etki göstermeyen doz, No Observed Adverse Effect Level) değeri günlük 0,5 mg /kg bulunmuştur. Bundan daha yüksek düzeylerde akrilamidin merkezi sinir sistemi nöropatisi gösterdiği gözlenmiştir (Tritscher, 2004).

2.4.7. Akrilamidin diğer etkileri

Akrilamidin insan vücudunda enzimatik bir reaksiyonla mutajenik ve kanserojenik olduğu düşünülen glisamide dönüştüğü belirtilmektedir

(Claeys, De Vleeschouwer, & Hendrickx, 2005; Rommens, Yan, Swords, Richael, & Ye, 2008; Wakaizumi vd., 2009). Deney hayvanları üzerinde yapılan çalışmalar sonucunda akrilamidin, nörotoksik, kanserojenik ve genotoksik özellikler gösterdiği, ayrıca üreme sistemi üzerinde de çeşitli problemlere yol açtığı belirlenmiştir (Parzefall, 2008; Tamer & Karaman, 2006). Yüksek dozlardaki akrilamidin üreme sistemi gibi sinir sistemini de etkilediği, metabolik ürünü olan glisamidin DNA'yı bağlayarak genetik hasara yol açtığı, yani genomu etkilediği bulunmuştur (Baardseth vd., 2006; Dybing & Sanner, 2003; B. Paulsson, Granath, Grawé, Ehrenberg, & Törnqvist, 2001). Akrilamidin aynı zamanda deri yoluyla emilerek kana karıştığı da ortaya çıkmıştır (Gutierrez-Espeleta vd., 1992). Ayrıca akrilamidin sigara dumanında olduğu da saptanmıştır (Carere, 2006).

Akrilamidin suda çözünmesi nedeniyle vücutta (süt ve plasenta dahil) çok geniş bir alana dağılmaktadır (M. Friedman & Levin, 2008; Granby & Fagt, 2004; Tritscher, 2004).

Kâğıt fabrikalarında ve suda çözünen polimerlerin üretildiği işletmelerde çalışan işçilerin solunum ve temas ile akrilamide maruz kaldığı belirtilmektedir (Galeša vd., 2008).

2.4.8. Akrilamidin üremeye etkisi

Akrilamidin üremeye etkileri de bulunmaktadır. Farede sperm sayısında azalmaya ve anormal sperm morfolojisinde artışa neden olmakta (Junko Sakamoto & Hashimoto, 1986) vakuolleşme ve yuvarlak spermatidlerin şişmesi gibi bozukluklara yol açmaktadır (J. Sakamoto vd., 1988). Spesifik germ hücresi evrelerinde DNA hasarına yol açmaktadır (Sega vd., 1990). Akrilamid verilen sıçanlarda testosteron konsantrasyonu ve Leydig hücre sayısı düşmektedir (H. J. Yang vd., 2005a). Sperm bozukluklarına yol açtığı ve testiküler hücreleri apoptosise götürdüğü gözlemlenmiştir. Seminifer tübüllerde birçok çekirdekli dev hücreler ve vakuolleşme görülmektedir. Akrilamid verilen erkek farelerde çiftleşmede, verimlilikte ve gebelikte hatta uterus içerisinde sperm transportunda ciddi azalmalar olmaktadır (Tyl vd., 2000). Ayrıca, Gassner ve Adler 1996' da akrilamidin spermatozitte hücre döngüsünün gecikmesine yol açtığını bildirdiler (Gassner & Adler, 1996).

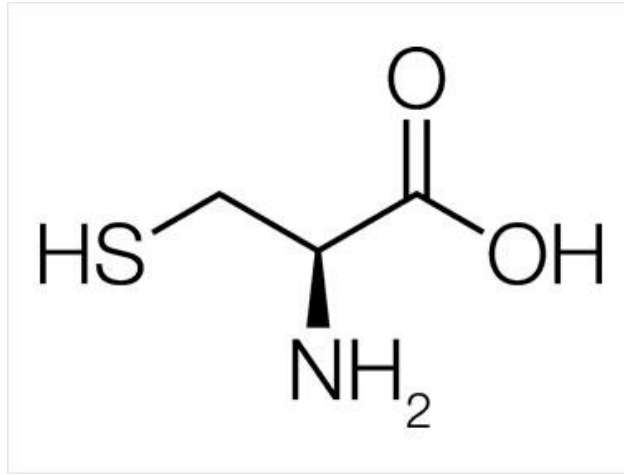
Akrilamidin farelerin ve sıçanların spermatidlerinde mutasyonlara neden olduğu rapor edilmiştir. Bundan dolayı, akrilamidin memeli üreme hücresi mutajeni olduğu düşünülmektedir (Adler, Schmid, & Baumgartner, 2002; Shelby, Cain, Cornett, & Generoso, 1987).

Akrilamid birçok çalışmada testis ağırlığında ve hayvanın vücut ağırlığında azalmaya neden olmuştur (Farombi vd., 2008; Reddy vd., 2011;

Wang vd., 2010). Bazılarında sadece hayvanın tüm ağırlığında azalma varken relatif testis ağırlığında bir değişiklik yapmamıştır (Farombi vd., 2008).

2.5. L-sistein

L-sisteinin moleküler formülü $C_3H_7NO_2S$ 'dir, molekül ağırlığı 121,2'dir. L-sisteinin bir diğer adı (R)-2-amino-3-merkaptopropiyonik asittir. Suda çözünürlüğü 25 mg/ml 'dir. L-sistein bir sülfür içeren aminoasittir ve sülfhidril bağları içerir (LifeExtension, 2003). Sülfür içeren üç aminoasitten bir tanesidir.



Şekil 2. 8 L-sisteinin kimyasal formülü

2.5.1. L-sisteinin antioksidan özelliği

Sülfhidril (SH) içeren aminoasitlerin genelde antitoksik ve antioksidan etkisi birçok farklı mekanizma içerir. Örneğin glutatyon öncülüdürler, indirgen ajanlardır, reaktif oksijen radikallerini yok ederler ve güçlü birer nükleofildirler (böylece akrilamid gibi elektrofilleri kaparlar) ve DNA' nın alkilasyonunu bu şekilde engellerler ve hücrel detoksifasyonu indüklerler (Mendel Friedman, 1994; Hadley, 1975; Burukoglu & Baycu, 2008; Hidalgo, Delgado, & Zamora, 2010).

L-sistein yarı esansiyel bir aminoasittir ve memeliler bu aminoasidi karaciğerde sentezleyebilirler (MicrobialWorld, 2012). Yarı esansiyel aminoasit olarak bilinme sebebi birçok reaksiyonda rol oynaması ve miktarının diğer aminoasitlere göre daha az olmasıdır. Ayrıca yapısal

proteinlerin sentezinde rol oynar. İnorganik sülfat, koenzim A, taurin, glutatyon ve protein sentezinde öncül bir aminoasittir. Normal günlük L-sistein alımı 1 gr kadardır (Life Extension, 2003). Sinir hücrelerinin okside olmasını engeller. Bağ dokusunun stabilitesini ve sertliğini korumasını sağlar.

L-sisteinin birđok bulunan etkilerinden bazıları akciğer fibrozisini engellemesi, toksisiteye karşı sitoprotektif etkisinin olması, katarakt oluşumunu engellemesi, akciğerde iskemi-reperfüzyonu engellemesi, alkol zehirlenmesinde kan, beyin ve karaciğerdeki alkol konsantrasyonunu azaltması, hipoglisemik ataklara karşı koruması ve ağır metal zehirlenmesine karşı koruması sayılabilir (LifeExtension, 2003).

L-sisteinin aynı zamanda muamele öncesi eklenerek besinlerin yüksek ısılarda ısıtılmasıyla oluşan Akrilamid miktarını da azalttığı belirtilmiştir (Claeys vd., 2005; M. Friedman & Levin, 2008; Kim, Hwang, & Lee, 2005).

L-sistein birđok potansiyel toksisiteyi azaltmak için kullanılmaktadır (Mendel Friedman, 1994; Stevens vd., 1995). Örneğin esmer ekmek yapımında esmerleşme sırasında oluşan muhtemel toksik ara ürünleri tutmak için kullanılır (Mendel Friedman, 1996). Aynı zamanda metal şelatörü olduğundan organik veya inorganik bileşiklerden kaynaklanan Cu^{+2} , Fe^{+2} ve benzeri toksik potansiyeli olan iyonları tutar (Mendel Friedman, 1994). Ayrıca, L-sistein vücutta iyileşme sürecini arttırarak inflamatuvar reaksiyonları da azaltır (IPCS, 1985).

Dearfield 1995'de akrilamidin reproduktif toksisitesinin sperm çekirdek veya kuyruğunda sülfhidril bağlarının alkilasyonu, glutatyon eksikliği veya testiste DNA'nın zarar görmesinden dolayı olduğunu belirtti (Dearfield vd., 1995). Sülfhidril iğereren aminoasitler akrilamid hasarına karşı koruyucu etki göstermektedirler (Rayburn & Friedman, 2010). L-sistein de sülfhidril iğerdiğinden akrilamidin zararlı etkisinden biri olan sülfhidril bağ alkilasyonunu spermlerde engeller ve glutatyon miktarını arttırır. Aynı zamanda Claeys ve arkadaşlarının ęalıřması sisteinin asparagine/glukoz sistemine eklenip 140 ve 200 °C sıcaklık arasında ısıtılmasının akrilamid miktarında azalmaya neden olduğunu göstermektedir (Claeys vd., 2005). L-sisteinin antioksidan etkisinin, örneğin hidroksil radikallerinin inaktivasyonu gibi, kendisinden kaynaklandığı veya glutatyon miktarını arttırdığından dolayı olduğu öne sürülmektedir (Parodi, 2007).

Genellikle L-sistein sülfhidril ve disülfid bağ değişimi reaksiyonlarına katılarak antioksidan özelliği sağlaması nedeniyle ekmek yapımında katkı maddesi olarak kullanılır. Proteinler arasındaki sülfhidril-disülfid bağı değişim reaksiyonlarına antioksidan olarak katılır ve böylece daha yüksek hacimli ekmek somunları üretilir (Ravi, Manohar, & Rao, 2000).

L-sisteinin aynı zamanda birçok organ hasarını azalttığı ve oksidan-antioksidan dengesini sağladığı belirtilmiştir. Örneğin akut pankreatit sıçanlarda akciğer, karaciğer ve bağırsak gibi uzak organ hasarını, malondialdehiti azaltmış ve glutatyon miktarını arttırmıştır (L.-J. Yang, Wan, Shen, Shen, & Wang, 2013).

2.5.2. L-sisteinin türevi NAC

L-sisteinin asetillenmiş türevi olan N-asetil sistein (NAC), Dünya Sağlık Örgütü'nde en önemli medikal ilaçlar listesine girmiştir (WHO, 2013). NAC'nin oksidatif strese karşı koruyucu etkisi olduğu bilinmektedir (Reddy vd., 2011). Çeşitli çalışmalar NAC'nin semenin hacmi, motilitesi, viskozitesi gibi testis parametreleri ve testis morfolojisi üzerinde faydalı etkileri olduğunu göstermektedir (Ciftci vd., 2009; Farombi vd., 2008). NAC SOD/CAT antioksidan sistemini, sperm sayı ve hareketliliğini ve canlı sperm sayısını artırır (Farombi vd., 2008). İdiopatik infertiliteye sahip hastalar üzerinde yapılan bir çalışmada NAC hastaların semeninin akışkanlığı, hareketliliği ve hacmi üzerine geliştirici etki yapmıştır. NAC aynı çalışmada serum antioksidan kapasitesini arttırmış, serbest oksijen radikallerini azaltmış ve semenin viskozitesini azaltmıştır (Ciftci vd., 2009). NAC hidroksil radikallerini temizler ve hücrel glutatyon üretimini tetikler ve bu sayede oksidatif hasarı azaltır (Aruoma vd., 1989; Cocco vd., 2005). NAC, aminoasit L-sisteinden türev alır ve ağır metallerin verdiği oksidatif stres ve hücrelerin zarar görmesini şelatör olarak engeller (Kumamoto vd., 2001). Ahmed ve arkadaşları L-sisteinin sisplatin kaynaklı testis hasarını düzelttiğini, glutatyon ve vitamin E seviyesini arttırdığını ve apoptotik hücre sayısını azalttığını belirtmişlerdir (Ahmed, Omar, elghaffar, Ragb, & Nasser, 2011). Yine 2012 yılında Alturfan ve arkadaşlarının çalışmalarında akrilamidin neden olduğu oksidatif hasara karşı NAC'nin oksidan-antioksidan dengesini sağladığı ve akrilamid hasarından kaynaklı sitokin artışını, serum enzim artışını ve lökositlerin apoptozisini azalttığı gözlemlenmiştir (E. I. Alturfan, Beceren, Şehirli, & Demiralp, 2012b).

L-sistein türevi olmasına rağmen NAC ksenobiyotiktir, yani canlının normal kimyasına yabancı bir maddedir. Sisteinin asetillenmesiyle oluşur.

Rayburn ve Friedman çalışmalarında indirgenmiş glutatyon ve L-sisteinin akrilamid hasarına karşı kurbağa embriyolarında ölüm oranını ve malformasyonları azalttığını, fakat bir sistein türevi olan NAC'nin sadece ölüm oranını azalttığını ve malformasyonları önleyemediklerini göstermişlerdir (Rayburn & Friedman, 2010). Bu sonuç NAC ve L-sisteinin koruyucu mekanizmalarının moleküler ve hücrel düzeyde farklı olduğunu göstermektedir. NAC ayırım gözetmeksizin vücuttaki birçok maddeyi

asetile eder. L-sistein vücutta doğal olarak bulunur ve daha uzun süredir kullanıldığından daha güvenlidir (LifeExtension, 2003).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Deney Hayvanları

Hayvanlarımız Tıbbi ve Cerrahi Deneysel Araştırma Merkezi'nden (TİCAM) temin edildi. 28 adet 11-12 haftalık 240-320 g arası ağırlıkta erişkin Sprague-Dawley cinsi erkek sıçanlar kullanıldı. Sıçanlar TİCAM' da oda sıcaklığında, uygun kafeslerde 12 saat gündüz/12 saat gece tutuldular ve serbestçe standart pellet ve su ile beslendiler. Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından 05.06.2014 tarihli ve 406 sayılı kararıyla çalışmamızdaki tüm işlemler onaylanmıştır.

28 adet sıçan herbir grupta 7 hayvan olacak şekilde kontrol (sadece serum fizyolojik verilen grup), akrilamit, L-sistein ve akrilamit+ L-sistein olmak üzere 4 gruba ayrıldı (Tablo 3.1).

1-) Kontrol grubu: Bu gruptaki hayvanlara sadece i.p. serum fizyolojik (SF,%0.9 Nacl) 40 mg/kg/gün, 10 gün boyunca verildi.

2-) L-sistein grubu: Bu gruptaki hayvanlara i.p. , SF içinde çözülmüş olarak 150 mg/kg/gün miktarda, 10 gün boyunca L-sistein verildi.

3-) Akrilamit grubu: Bu gruptaki hayvanlara i.p. , SF içinde çözülmüş olarak 40 mg/kg/gün miktarda, 10 gün boyunca akrilamit verildi.

4-)-Akrilamit+L-sistein grubu: Bu gruptaki hayvanlara i.p. olarak akrilamit ve L-sistein 40 mg/kg/gün ve 150 mg/kg/gün sırasıyla miktarlarda SF içinde çözülmüş olarak 10 gün boyunca verildi (A. A. Alturfan vd., 2012a; E. I. Alturfan vd., 2012b; Mustafa, 2012).

NOT: L-sistein akrilamitten 45 dakika önce i.p. olarak verilmiştir.

Tablo 3. 1 Hayvan grupları ve verilen doz miktarları

| GRUP GÜNLER | Kontrol | L-Sistein | Akrilamit | Akrilamit + L-Sistein |
|----------------|--------------------|-----------|-----------|-----------------------|
| 1. | SF | 150 mg/kg | 40 mg/kg | 40 mg/kg + 150 mg/kg |
| 2. | SF | 150 mg/kg | 40 mg/kg | 40 mg/kg + 150 mg/kg |
| 3. | SF | 150 mg/kg | 40 mg/kg | 40 mg/kg + 150 mg/kg |
| 4. | SF | 150 mg/kg | 40 mg/kg | 40 mg/kg + 150 mg/kg |
| 5. | SF | 150 mg/kg | 40 mg/kg | 40 mg/kg + 150 mg/kg |
| 6. | SF | 150 mg/kg | 40 mg/kg | 40 mg/kg + 150 mg/kg |
| 7. | SF | 150 mg/kg | 40 mg/kg | 40 mg/kg + 150 mg/kg |
| 8. | SF | 150 mg/kg | 40 mg/kg | 40 mg/kg + 150 mg/kg |
| 9. | SF | 150 mg/kg | 40 mg/kg | 40 mg/kg + 150 mg/kg |
| 10. | SF | 150 mg/kg | 40 mg/kg | 40 mg/kg + 150 mg/kg |
| 11. | Dokuların Alınması | | | |

3.2. Kimyasallar

Akrilamit (%99 saflıkta, A9099) ve L-sistein (\geq %98, C7352) Sigma-Aldrich'ten temin edildi.

3.3. Vücut Ağırlıklarının Ölçümü

Hayvanların vücut ağırlıkları uygulanacak madde dozlarını belirlemek üzere günlük olarak tartıldı. Günlük vücut ağırlıklarına uygun olarak maddeler verildi. Deney sonunda da hayvanların vücut ağırlıkları tartılarak kaydedildi.

3.4. Bouin Çözeltisinin Hazırlanması

12,2 g pikrik asit 1000 ml distile suda çözünerek doymuş pikrik asit çözeltisi hazırlandı. Çözelti iyice çözünene kadar sallanarak çalkalandı. Sonra çözelti süzüldü ve sırasıyla 15:5:1 oranlarında doymuş pikrik asit çözeltisi, formaldehit(%37) ve glasiyal asetik asitle karıştırıldı.

3.5. Dokuların Alınması

10. gün son enjeksiyon yapıldıktan 24 saat sonra hayvanların vücut ağırlıkları ölçülüp kaydedildi. Ketamin (90 mg/kg) + ksilazin (10 mg/kg) anestezisi altında hayvanların kalplerinden kan alındı. Karın bölgeleri açılarak testisler çıkarıldı. Daha sonra testislerin her birinin ağırlığı ölçüldü. Testislerin daha iyi fikse olması için birkaç delik açıldı ve gazlı bez içine alındı. Daha sonra sol testisler Bouin solusyonuna, sağ testisler %10 formaldehite alındı. Sol testisler Bouin solüsyonunda bir gün kaldıktan sonra testisler uzun eksenlerine dik olacak şekilde kesildi ve bu şekilde Bouin solüsyonunda bir gün daha bekletildi. Formaldehite konan sağ testisler uzun eksenine dik olacak şekilde bölündü. 18 saat formaldehitte kaldıktan sonra her iki testis de etiketlenerek kasetlere alındı ve klasik doku takibi işlemine alınarak parafin bloklar hazırlandı.

3.6. Testis Ağırlıklarının Ölçümü

Hassas terazi ile sağ ve sol testislerin her biri ayrı olarak tartıldı. Toplam testis ağırlık indeksi aşağıda verilen formül ile hesaplandı:

$$TAİ: [(sağ+sol testis ağırlıkları toplamı)/vücut ağırlığı] \times 100$$

(Sahinturk, Guclu, & Baycu, 2007).

3.7. Işık Mikroskobu için Dokuların Hazırlanması

Testisler Bouin solüsyonunda fikse edildikten sonra dokular klasik doku takibi işlemine tabi tutuldu (Tablo 3.2) ve H-E ile boyandı.

Tablo 3. 2: Testis dokularının takibinde kullanılan süreler

| Kullanılan kimyasallar | Uygulama süresi |
|-------------------------------|------------------------|
| Bouin Çözeltisi | 48 saat |
| %50 Alkol | Birkaç defa çalkalandı |
| %70 Alkol | 1 saat |
| %80 Alkol | 1 saat |
| %90 Alkol | 1 saat |
| %96 I Alkol | 1 saat |
| %96 II Alkol | 1 saat |
| %100 Alkol | 10 dakika |
| Ksilol I | 20 dakika |
| Ksilol II | 20 dakika |
| Parafin + Ksilol | 30 dakika |
| Parafin I | 45 dakika |
| Parafin II | 1 saat |
| Parafin III | 1 saat 20 dk |
| Bloklama | |

3.8. Kesitlerin Alınması ve Boyanması

Trim aralığı 30 µm tutularak her bloktan 3-4 µm kalınlığında kesitler alındı. Lamlar uygun bir şekilde kodlandırıldı. Her lam üzerine 2 kesit alınmasına dikkat edildi. Lamlar ışık mikroskopunda inceleme için HE ile boyandı. Boyama yönteminin basamakları ve uygulama süreleri Tablo 3.3 'de gösterilmiştir.

Tablo 3. 3 H-E boyama yöntemi basamaklarında kullanılan süreler

| Kimyasal madde | Uygulama süresi |
|-----------------------|------------------------|
| Ksilol I | 20 dakika |
| Ksilol II | 20 dakika |
| %96 alkol I | 5 |
| %96 alkol II | 5 |
| %90 alkol | 5 |
| %80 alkol | 5 |
| %70 alkol | 5 |
| Distile su | 5 |
| Hematoksilin | 1 |
| Çeşme suyunda yıkama | 5 |
| Eozin | 5 |
| %70'lik alkol | 2 |
| %80'lik alkol | 2 |
| %90'lik alkol | 2 |
| %96'lik alkol I | 2 |
| %96'lik alkol II | 2 |
| Ksilol I | 20 |
| Ksilol II | 20 |
| Lamların kapatılması | |

3.9. Histolojik Değerlendirme

Histopatolojik değerlendirme DP 70 dijital kamera ile donatılmış Olympus BX51 ışık mikroskobu (Olympus Corp. Tokyo, Japonya) ile yapıldı. H-E ile boyanmış olarak hazırlanan preparatlarda interstisyel alan ve seminifer tübüller ayrı ayrı değerlendirildi. İnterstisyel alanda Leydig hücreleri, interstisyel bağ dokusu ve burada yer alan hücreler, lifler, damarların yapısı incelendi. Seminifer tübüllerde bazal membran, Sertoli hücreleri, spermatogonya ve diğer spermatogenik seri hücreler ve lümen incelendi. Mikroskobik incelemeler sonunda değerlendirme yapılarak grupları temsil eden görüntüler elde edildi.

3.10. Morfolojik İnceleme

Morfometrik inceleme BAB Bs200Prop görüntü işleme ve analiz programı ile yapıldı.

3.10.1. Seminifer tübül çapı ölçümü

Herbir seminifer tübülün enine paralel çizmek suretiyle, herbir hayvandan rastgele, 50 tübül, herbir gruptan toplam 350 tübül çapı (50 x 7) olmak üzere toplam 1400 adet (350 x 4) seminifer tübül çapı ölçülmüştür (Şekil 3.1).

3.10.2. Dev hücre sayımı

Dev hücreler kontrol grubu ve L-sistein grubunda görülmemiştir. Dolayısıyla dev hücrelerin görüldüğü akrilamit ve akrilamit + L-sistein gruplarında sayım yapılmıştır. Gruplara ait herbir hayvandan eşit sayıda bakılmak üzere, herbir hayvandan 120 (6 farklı kesit x 20 tübül) ve herbir gruptan toplam 840 (120x7 hayvan) rastgele seçilmiş seminifer tübülünde dev hücre bulunup bulunmamasına göre tübüller sayıldı. En az bir adet dev hücre bulunduran seminifer tübül 1 olarak sayıldı. Daha sonra, en az bir adet Dev hücre bulunduran seminifer tübül miktarı / toplam sayılan seminifer tübül miktarı x 100 formülüyle gruptaki dev hücre içeren seminifer tübül yüzdesi bulundu ve gruplar arasında anlamlı fark olup olmadığına (Mann Whitney testi) bakıldı.

3.11. Hormon Analizi

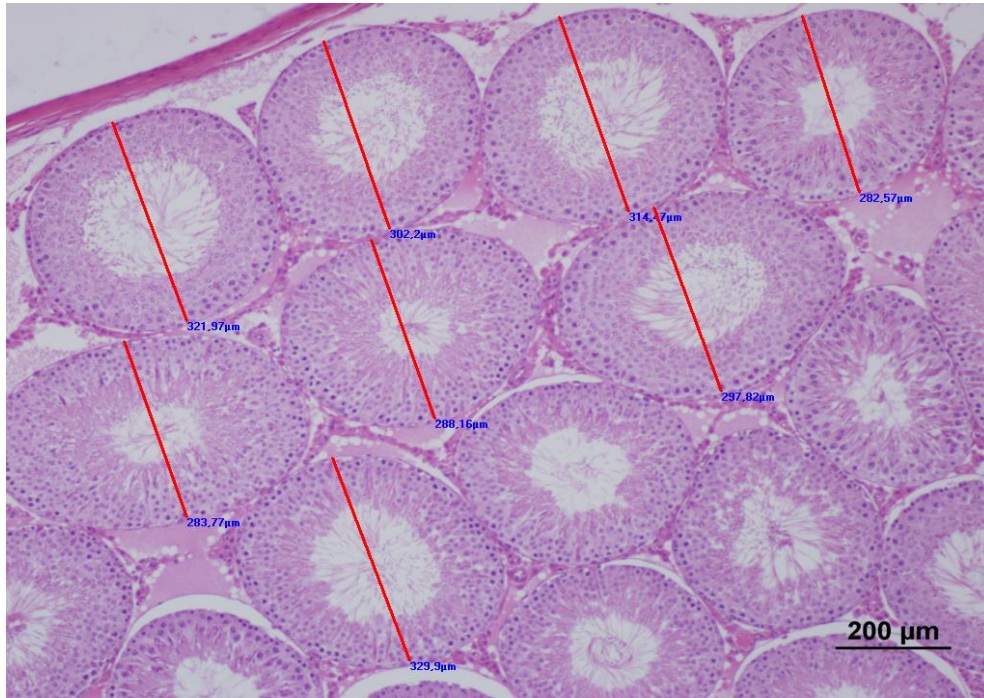
Serum testosteron düzeyi Biovendor'un fare/sıçan testosteron elisa total testosteron kiti ile Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı'nda ölçüldü.

3.12. İstatiksel Analiz

Çalışmamızda elde edilen bulguların istatistiksel değerlendirme ve analizi IBM SPSS statistics 21 programıyla yapıldı.

İlk ve son vücut ağırlığı, sağ testis ağırlığı, sol testis ağırlığı, toplam testis ağırlığı ve TAİ değişkenlerinin gruplara göre normal dağılıma uygunluğu Shapiro-Wilk normalite testi ile araştırılmıştır. Grupların her birinin normal dağılım gösterdiği değişkenlerde gruplar tek yönlü varyans analizi ile karşılaştırılmıştır. Tek yönlü varyans analizinde varyansların homojenliği Levene testi ile ölçülmüştür. Varyansların homojen olduğu durumlarda Tukey HSD, olmadığı durumlarda Games Howell çoklu karşılaştırma testi yapılmıştır. Grupların her birinin normal dağılım göstermediği değişkenlerde Kruskal-Wallis testi uygulanmıştır.

Karşılaştırma sonuçları değerlendirilirken $p < 0,05$ olduğu durumlarda anlamlı fark bulunduğu kabul edilmiştir.



Şekil 3. 1 Seminifer tübül çapı ölçümü

4. BULGULAR

Çalışmamızda elde ettiğimiz bulgular aşağıda belirtilmiştir.

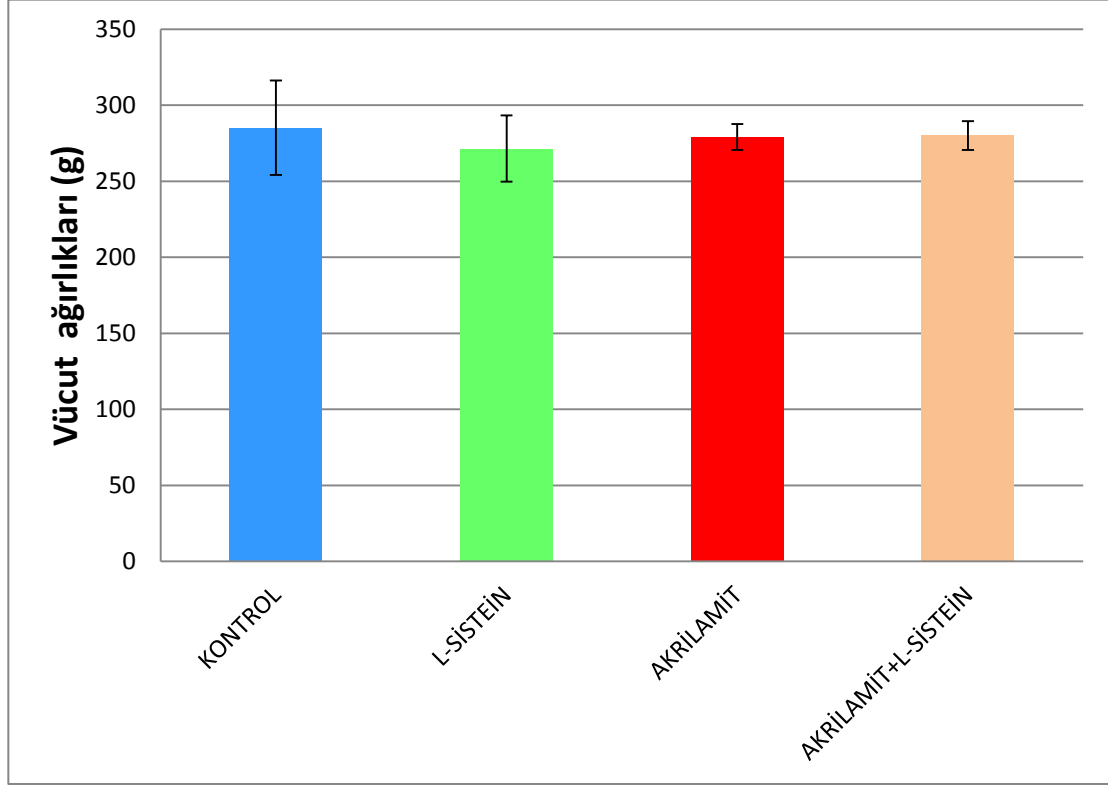
4.1. Vücut ve Testis Ağırlıkları

4.1.1. Deney başlangıcı vücut ağırlığı

Başlangıç ağırlıkları karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır (Tablo 4.1, Şekil 4.1).

Tablo 4. 1 Deney öncesi vücut ağırlıkları

| GRUPLAR | Deney öncesi ağırlıklar (g) | P |
|---------------------|-----------------------------|-------|
| Kontrol | 285,1 ± 31,0 | 0,646 |
| L-sistein | 271,4 ± 21,8 | |
| Akrilamit | 279,1 ± 8,5 | |
| Akrilamit+L-sistein | 280,0 ± 9,6 | |



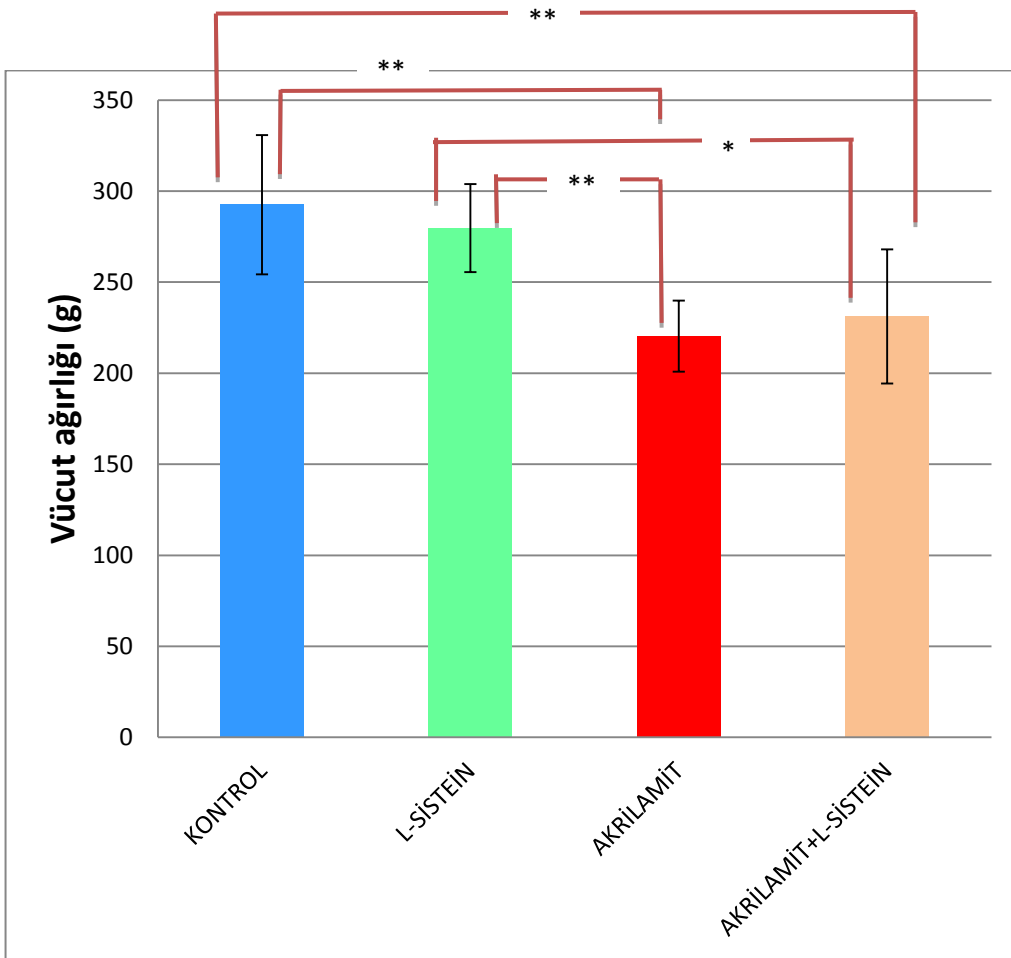
Şekil 4. 1 Deney öncesi vücut ağırlıkları. $p > 0,05$ ($p = 0,646$) olduğundan vücut ağırlıkları açısından gruplar arasında anlamlı bir fark yoktur.

4.1.2. Deney sonu vücut ağırlığı

Deney sonu gruplar arası vücut ağırlıkları kıyaslandığında, kontrol grubu ve akrilamit grubu arasında ($p = 0,001^{**}$) ve kontrol grubuyla akrilamit + L-sistein grubu arasında ($p = 0,005^{**}$) istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur. Akrilamit ve Akrilamit+L-sistein gruplarının vücut ağırlıkları kontrol grubuna kıyasla daha düşük çıkmıştır. Ayrıca L-sistein grubuyla akrilamit grubu ($p = 0,007^{**}$) ve L-sistein grubuyla akrilamit + L-sistein grupları arasında ($p = 0,033^*$) istatistiksel olarak anlamlı farklar gözlemlenmiştir. L-sistein grubuyla kıyaslandığında akrilamit ve akrilamit+L-sistein grubunun vücut ağırlığı azalmıştır (Tablo 4.2, Şekil 4.2).

Tablo 4. 2 Deney sonrası vücut ağırlığı farkları

| GRUPLAR | Deney sonrası ağırlıklar (g) | P |
|---------------------|------------------------------|-----------|
| Kontrol | 292,6 ± 38,2 | <0,001*** |
| L-sistein | 279,7 ± 24,2 | |
| Akrilamit | 220,3 ± 19,5 | |
| Akrilamit+L-sistein | 231,1 ± 36,8 | |



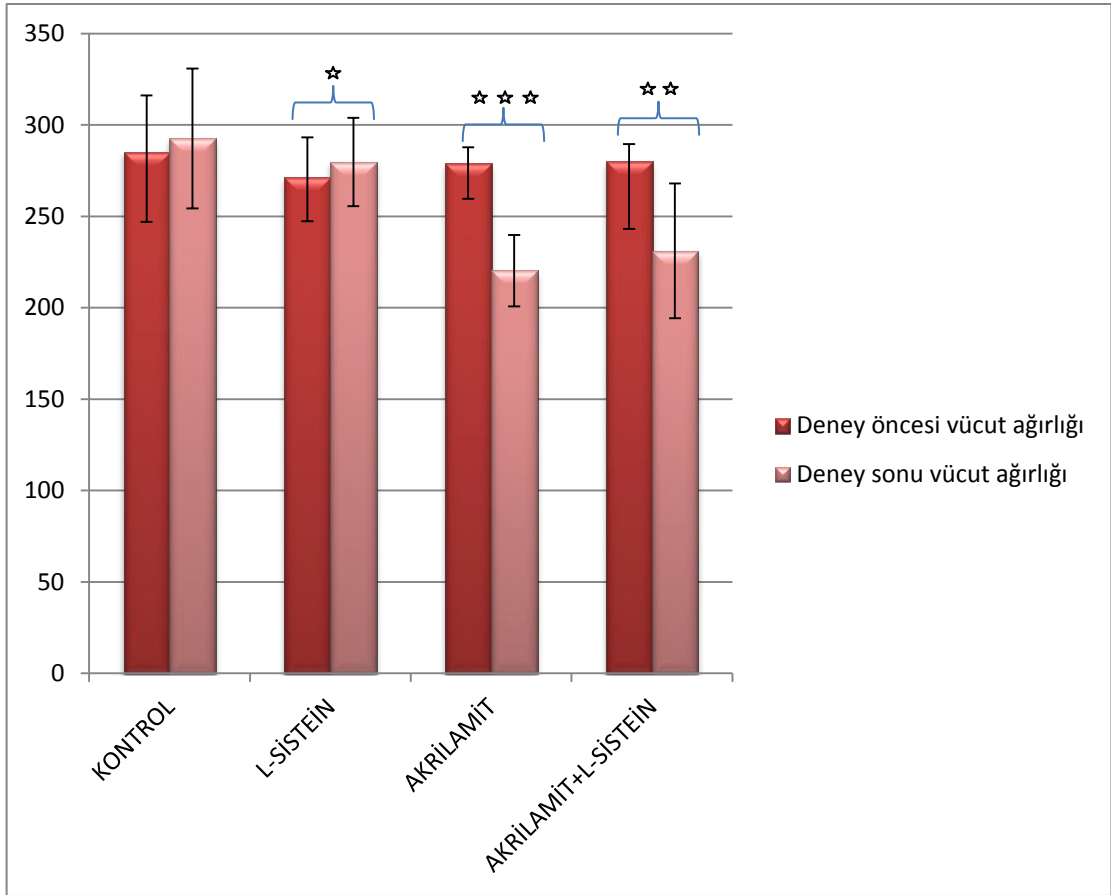
Şekil 4. 2 Deney sonrası vücut ağırlıkları. Gruplar arasında * p<0,05, ** p<0,01 düzeyinde anlamlı fark vardır.

4.1.3. Deney başlangıcı ve deney sonu vücut ağırlıkları

Deney başlangıcı ve sonu gruplar arası vücut ağırlıkları kıyaslandığında, kontrol grupları arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır. Kontrol grubunda bir miktar ağırlık artışı olmuştur, fakat bu istatistiksel olarak anlamlı değildir. L-sistein gruplarına bakıldığında vücut ağırlığında anlamlı bir artış olmuştur ($p=0,027^*$). Akrilamit ve akrilamit+L-sistein grupları kıyaslandığında deney sonuna doğru gruplarda sırasıyla $p<0,001^{***}$ ve $p=0,009^{**}$ anlamlılık düzeyinde bir ağırlık azalması yaşanmıştır (Tablo 4.3, Şekil 4.3).

Tablo 4. 3 Deney öncesi ve sonrası vücut ağırlıkları

| GRUPLAR | | Ortalama±Standard sapma | Eşleştirilmiş t-testi |
|---------------------|---------------|-------------------------|-----------------------|
| KONTROL | Deney öncesi | 285,14±30,98 | p>0,05 (fark yok) |
| | Deney sonrası | 292,57±38,21 | |
| L-SİSTEİN | Deney öncesi | 271,43±21,79 | P=0,027* |
| | Deney sonrası | 279,71±24,20 | |
| AKRİLAMİT | Deney öncesi | 279,14±8,53 | P<0,001*** |
| | Deney sonrası | 220,29±19,52 | |
| AKRİLAMİT+L-SİSTEİN | Deney öncesi | 280,00±9,56 | P=0,009** |
| | Deney sonrası | 231,14±36,83 | |



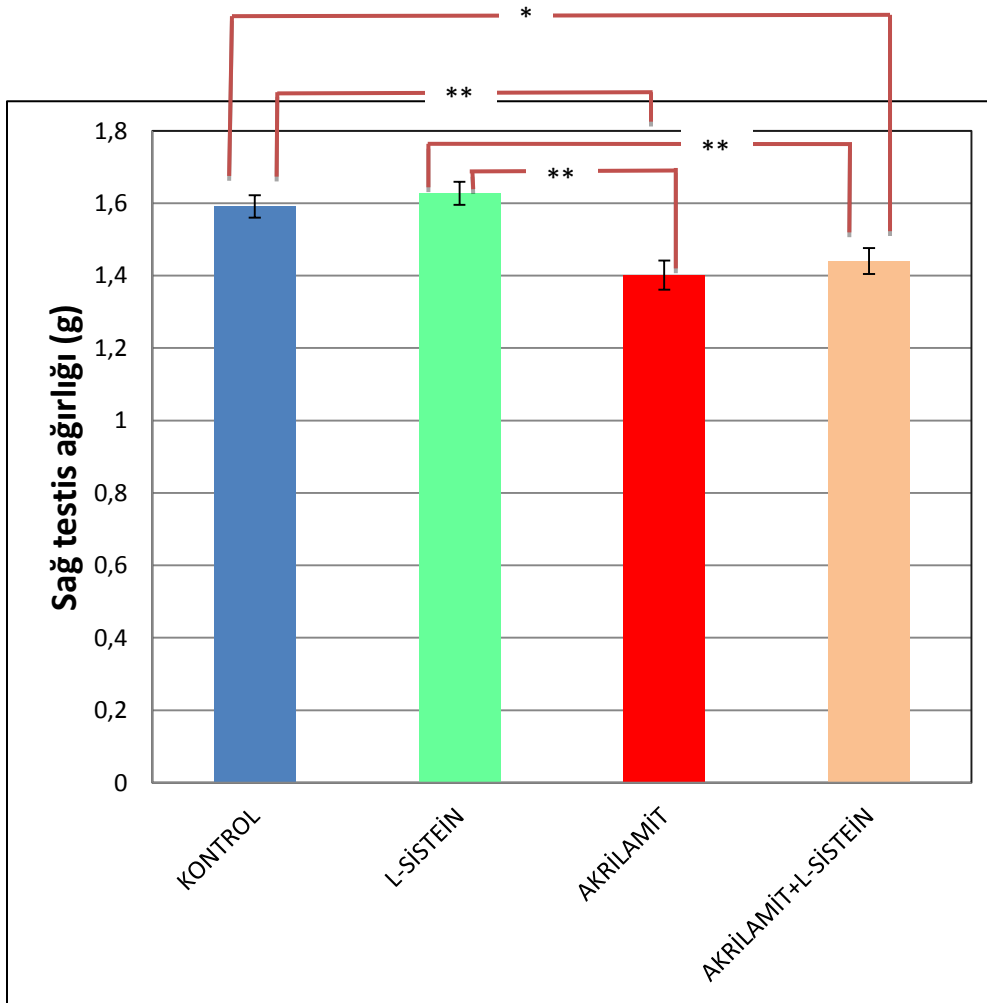
Şekil 4. 3 Deney öncesi ve sonrası vücut ağırlıkları. Gruplar arasında * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ ve *** $p < 0,001$ düzeyinde anlamlı fark bulunmuştur.

4.1.4. Sağ testis ağırlığı

Sağ testis ağırlıkları kıyaslandığında, kontrol grubu ve akrilamit grubu arasında ($p=0.003^{**}$) ve kontrol grubuyla akrilamit+L-sistein grubu arasında ($p=0.023^{*}$) istatistiksel olarak anlamlı farklar bulunmuştur. Akrilamit ve akrilamit+L-sistein gruplarının sağ testis ağırlıkları kontrol grubuyla kıyaslandıklarında azalmıştır. Ayrıca L-sistein grubuyla akrilamit grubu ($p=0,001^{**}$) ve L-sistein grubuyla akrilamit+ L-sistein grupları arasında ($p=0,004^{**}$) istatistiksel olarak anlamlı farklar gözlemlenmiştir. Akrilamit ve akrilamit+L-sistein gruplarının sağ testis ağırlıkları L-sistein grubuyla kıyaslandıklarında azalmıştır (Tablo 4.4, Şekil 4.4).

Tablo 4. 4 Sağ testis ağırlıklarının karşılaştırılması

| GRUPLAR | Sağ testis ağırlıkları (g) | P |
|---------------------|----------------------------|-----------|
| Kontrol | 1,59 ± 0,08 | <0,001*** |
| L-sistein | 1,63 ± 0,08 | |
| Akrilamit | 1,40 ± 0,12 | |
| Akrilamit+L-sistein | 1,44 ± 0,06 | |



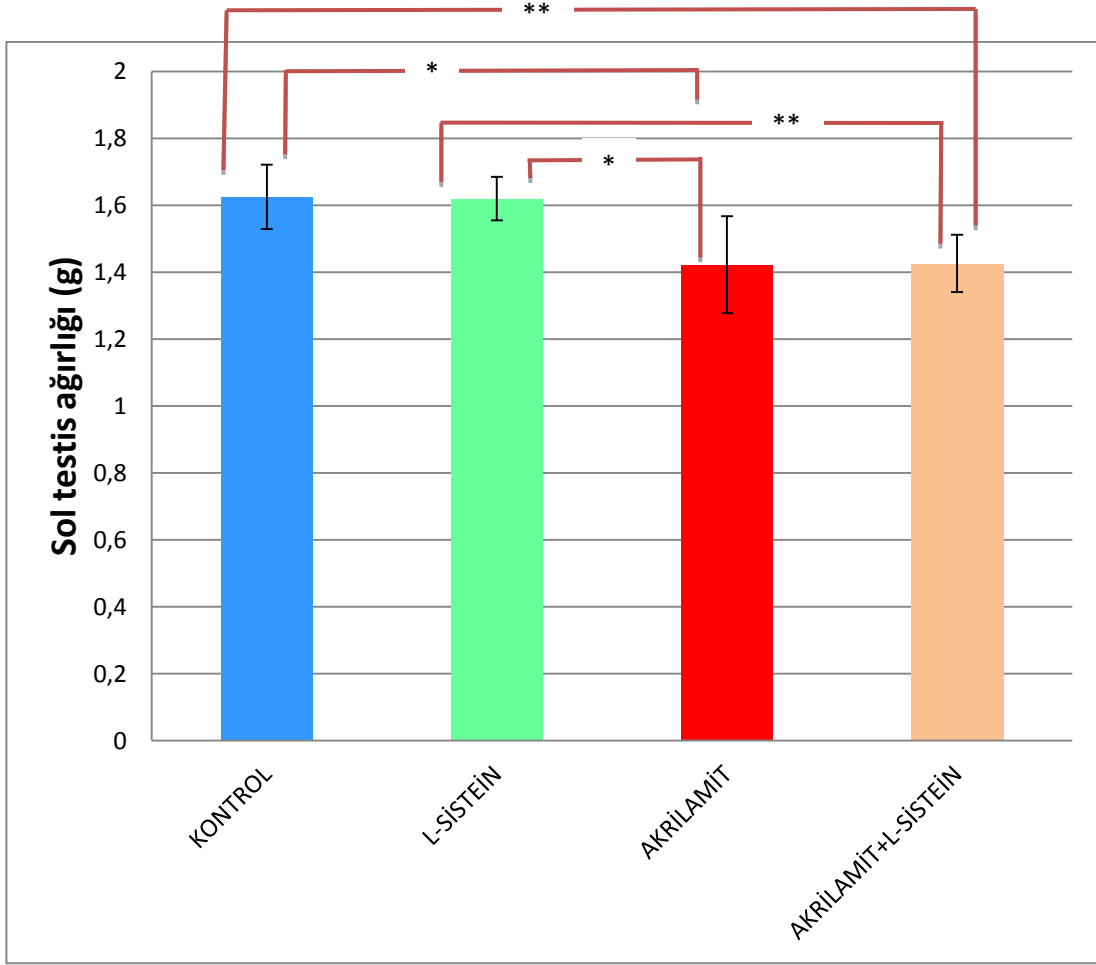
Şekil 4. 4 Sağ testis ağırlıkları. Gruplar arasında * p<0,05, ** p<0,01 düzeyinde anlamlı fark vardır.

4.1.5. Sol testis ağırlığı

Sol testis ağırlıkları kıyaslandığında, kontrol grubu ve akrilamit grubu arasında ($p=0.047^*$) ve kontrol grubuyla akrilamit+L-sistein grubu arasında ($p=0.007^{**}$) istatistiksel olarak anlamlı farklar bulunmuştur. Akrilamit ve akrilamit+L-sistein gruplarının sol testis ağırlıkları kontrol grubuyla kıyaslandıklarında azalmıştır Ayrıca L-sistein grubuyla akrilamit grubu ($p=0,043^*$) ve L-sistein grubuyla akrilamit+ L-sistein grupları arasında ($p=0,003^{**}$) istatistiksel olarak anlamlı farklar gözlemlenmiştir. Akrilamit ve akrilamit + L-sistein gruplarının sol testis ağırlıkları L-sistein grubuyla kıyaslandıklarında azalmıştır (Tablo 4.5, Şekil 4.5).

Tablo 4. 5 Sol testis ağırlıklarının karşılaştırılması

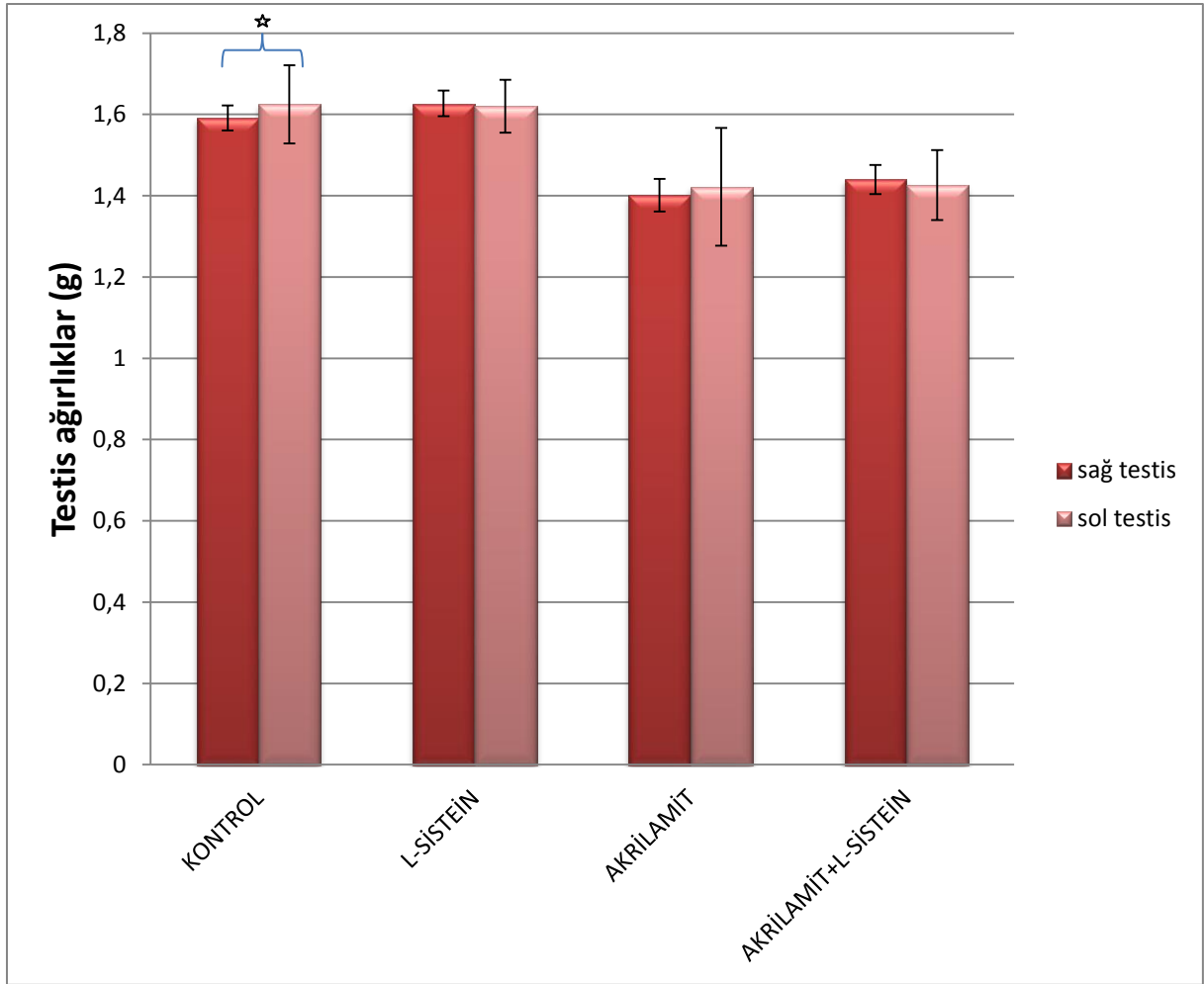
| GRUPLAR | Sol testis ağırlıkları (g) | P |
|----------------------------|-----------------------------------|--------------------------------|
| Kontrol | 1,63 ± 0,10 | <0,001^{***} |
| L-sistein | 1,62 ± 0,07 | |
| Akrilamit | 1,42 ± 0,15 | |
| Akrilamit+L-sistein | 1,43 ± 0,09 | |



Şekil 4. 5 Sol testis ağırlıkları. Gruplar arasında * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ düzeyinde anlamlı fark vardır.

4.1.6. Sağ ve sol testis ağırlıkları

Sağ ve sol testis ağırlıkları her bir grup için kendi aralarında kıyaslandığında sadece kontrol grubunda $p = 0,031^*$ anlamlılık derecesinde sol testis sağ testisten daha ağır bulunmuştur. Diğer gruplarda istatistiksel olarak anlamlı bir fark elde edilememiştir (Şekil 4.6).



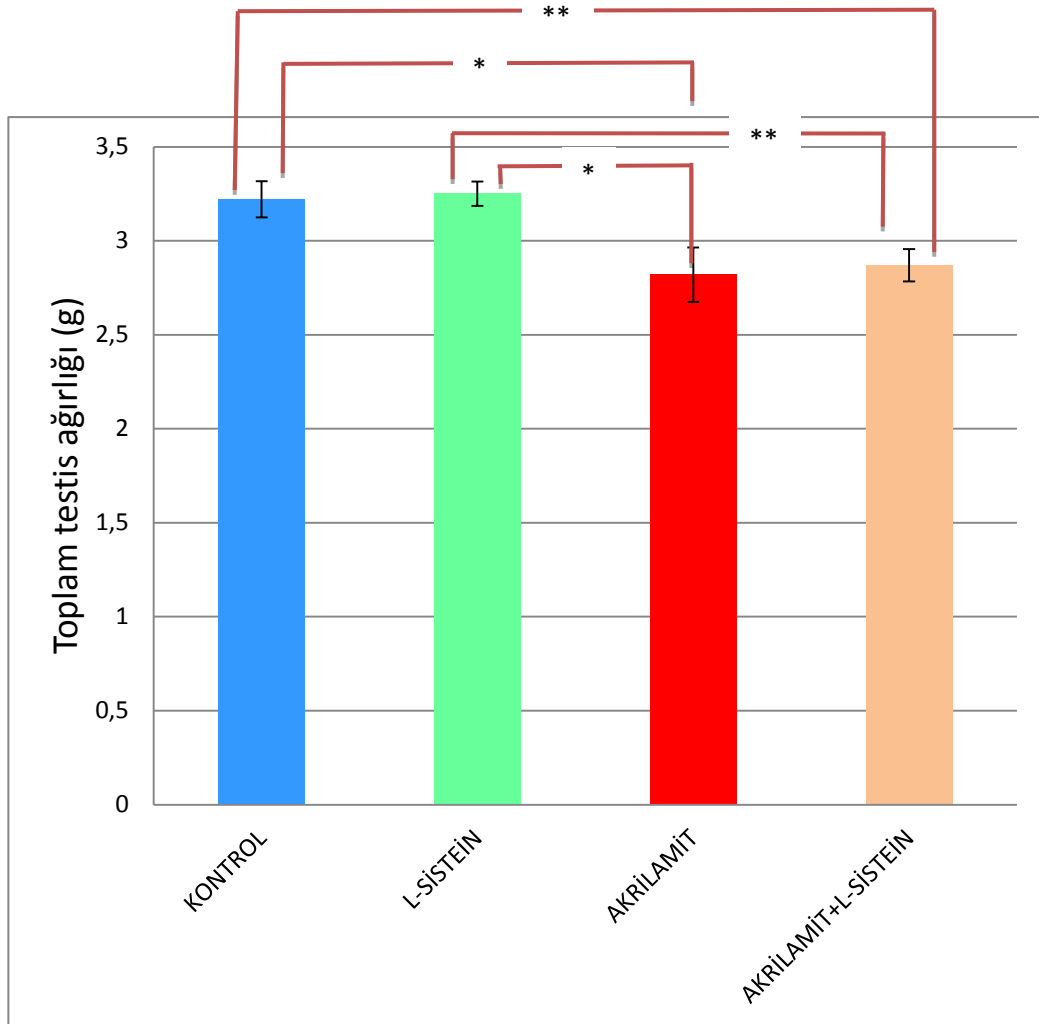
Şekil 4. 6 Sağ ve sol testis ağırlıkları. Gruplar arasında $p < 0,05$ düzeyinde anlamlı fark vardır.

4.1.7. Toplam testis ağırlığı (TTA)

TTA kıyaslandığında, kontrol grubu ve akrilamit grubu arasında ($p=0.034^*$) ve kontrol grubuyla akrilamit + L-sistein grubu arasında ($p=0.008^{**}$) istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlemlenmiştir. Ayrıca L-sistein grubuyla akrilamit grubu ($p=0,019^*$) ve L-sistein grubuyla akrilamit + L-sistein grupları arasında da ($p=0,001^{**}$) istatistiksel olarak anlamlı ağırlık azalması bulunmuştur (Tablo 4.6, Şekil 4.7).

Tablo 4. 6 Toplam testis ağırlıklarının karşılaştırılması

| GRUPLAR | Sol testis ağırlıkları (g) | P |
|---------------------|----------------------------|-----------|
| Kontrol | 3,22 ± 0,18 | <0,001*** |
| L-sistein | 3,25 ± 0,14 | |
| Akrilamit | 2,82 ± 0,26 | |
| Akrilamit+L-sistein | 2,87 ± 0,15 | |



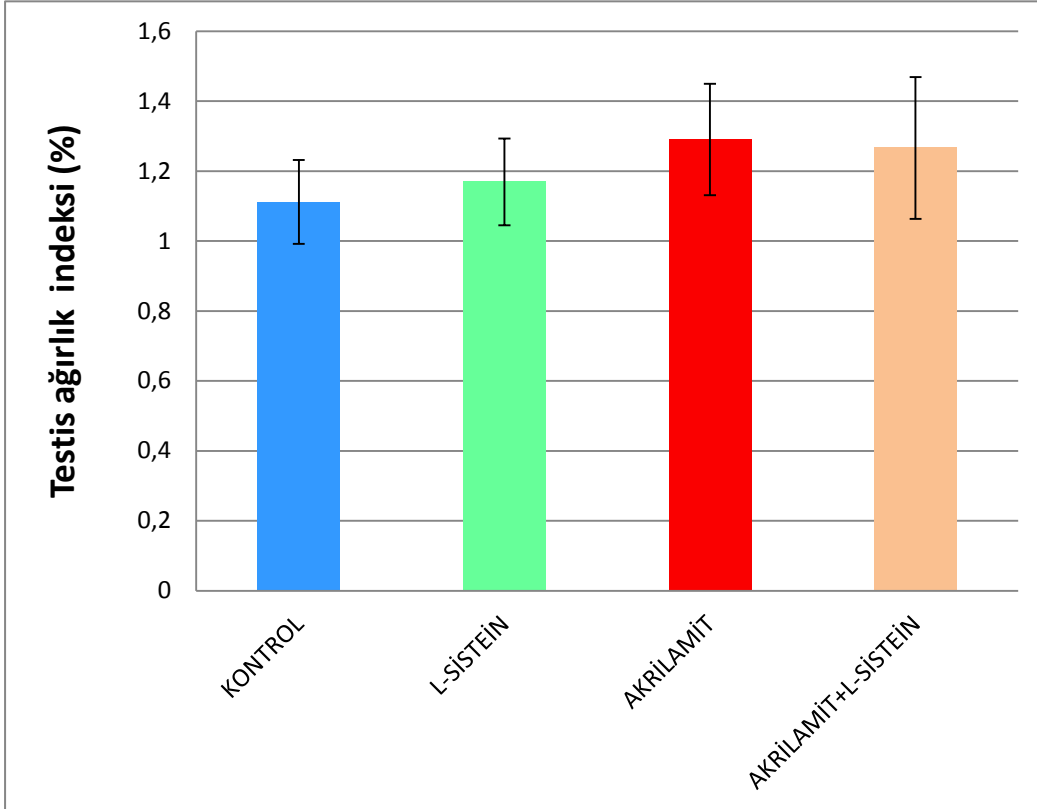
Şekil 4. 7 Toplam testis ağırlığı. Gruplar arasında * p<0,05, ** p<0,01 düzeyinde anlamlı fark vardır.

4.1.8. Testis ağırlık indeksi (TAİ)

Grupların testis ağırlık indeksleri (TAİ) karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır. Ancak akrilamit ve akrilamit + L-sistein gruplarının testis indeksleri diğer gruplara göre daha yüksek çıkmıştır (Tablo 4.7, Şekil 4.8).

Tablo 4. 7 Testis ağırlık indekslerinin karşılaştırılması

| GRUPLAR | Testis ağırlık indeksi (g) | P |
|---------------------|----------------------------|-------|
| Kontrol | 1,11 ± 0,12 | 0,137 |
| L-sistein | 1,17 ± 0,12 | |
| Akrilamit | 1,29 ± 0,16 | |
| Akrilamit+L-sistein | 1,27 ± 0,20 | |



Şekil 4. 8 Testis ağırlık indeksi. Gruplar arasında fark yoktur (p=0,137).

4.2. Histopatolojik İnceleme

Kontrol ve deney gruplarını oluşturan sıçan testislerinin genel histolojik görünümünü saptamak için H-E boyası uygulanmıştır.

4.2.1. Kontrol grubu

Kontrol grubunu oluşturan testis örneklerine ışık mikroskopunda bakıldığında düzgün bir spermatogenezin olduğu gözlemlendi. Sertoli hücreleri, oldukça belirgin spermatogonya ve diğer spermatogenik seri hücreleri normal olarak bulunurken, gelişmekte olan spermatidlerin başı Sertoli hücresi sitoplazmasına gömülü ve kuyruğu lümene doğru çevrilmiş şekilde lokalize olduğu gözlemlendi. Ayrıca, bazal membran, interstisyel alan ve seminifer tübül yapılarının normal yapıda olduğu saptandı. Leydig hücrelerinin klasik eozinofilik sitoplazmaları, ekzantrik çekirdekleriyle normal yapıda olduğu görüldü. Aynı zamanda bazal membran ve tunika albuginea da herhangi bir hasara rastlanmadı (Şekil 4.9-4.10).

4.2.2. L-sistein grubu

Bu gruptaki sıçan grubunun testis örnekleri incelendiğinde kontrol grubuna benzer biçimde normal bir spermatogenetik seri (spermatogonya, primer spermatozoid ve spermatozoid) hücreleri ile Sertoli hücrelerinin yapıları gözlemlendi. Spermatogenezin normal devam ettiği görüldü. Seminifer tübül, bazal membran ve interstisyel alan kontrol grubuna benzer bulundu. İnterstiyel alandaki kan damarları ve Leydig hücreleri normal yapıda gözlemlendi. Aynı zamanda seminifer tübül bazal membranları normal yapıda gözlemlendi (Şekil 4.11-4.12).

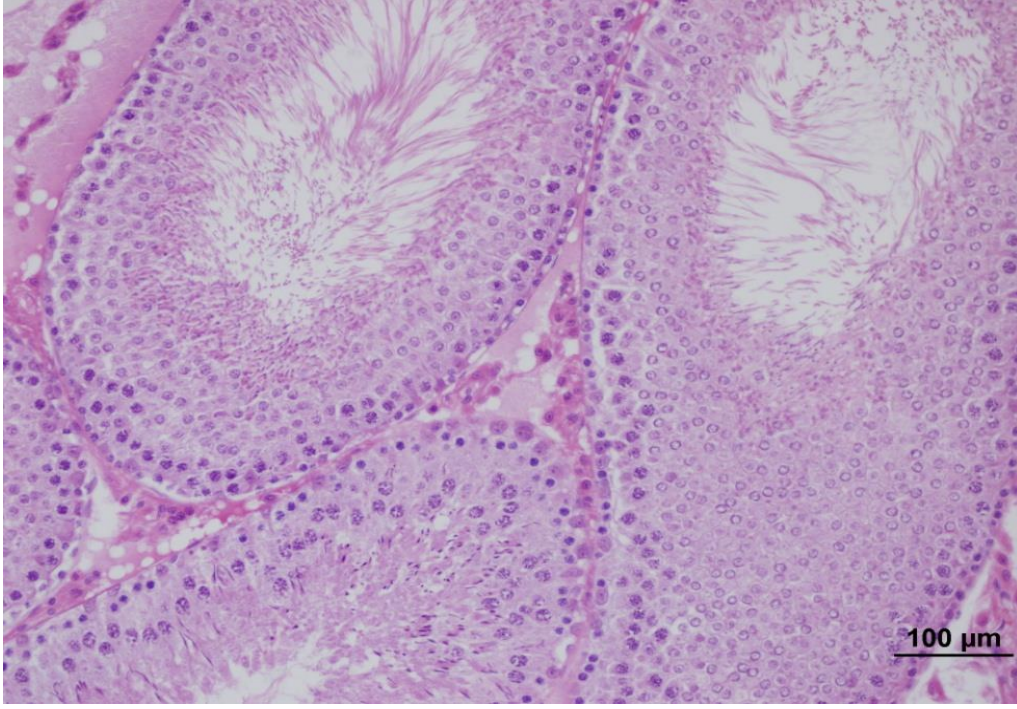
4.2.3. Akrlamit grubu

Bu gruptaki testis örnekleri mikroskopik olarak incelendiğinde interstisyel alan kontrol ve L-sistein gruplarıyla benzer bir biçimde gözlemlendi. Ekzantrik çekirdekli, kuvvetli eozinofilik sitoplazmalı Leydig hücreleri ve etrafındaki bağ dokusu normal görüldü. Ancak seminifer tübüllere bakıldığında seminifer epitelde dev hücrelere rastlandı. Birçok çekirdeğin kaynaşmasıyla oluşmuş bu dev hücrelerin bazı tübüllerde lümene döküldüğü gözlemlendi. Ayrıca dev hücrelerin gözlemlendiği ve

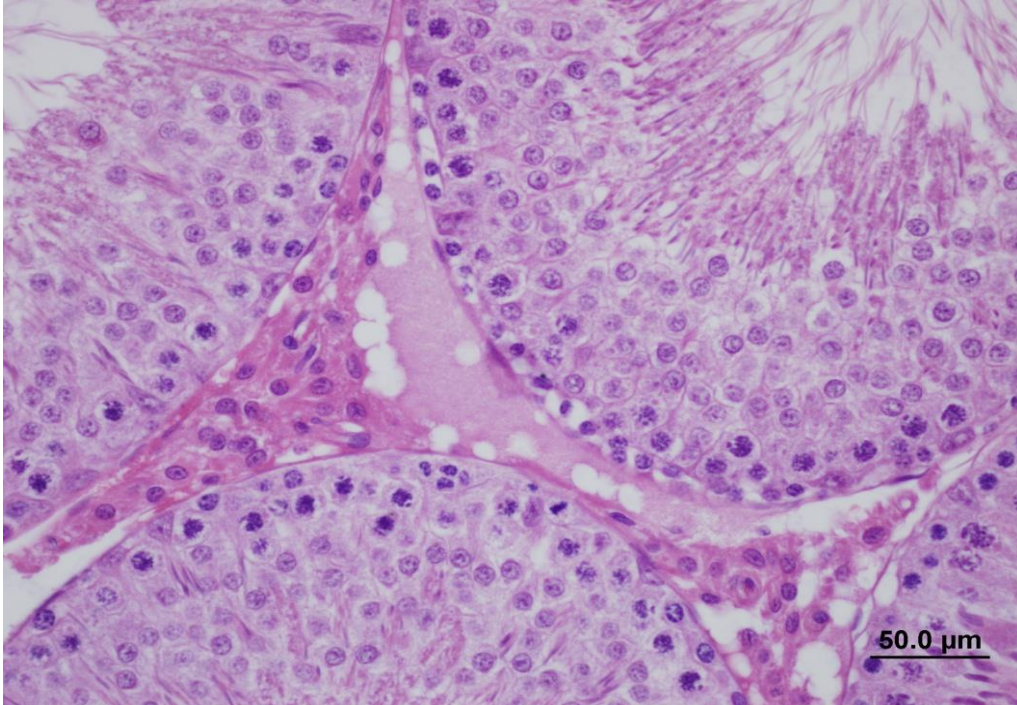
lümene döküldüğü tübüllerde lümendeki spermatozoanın daha az olduğu görüldü (Şekil 4.13-4.16).

4.2.4. Akrlamit+L-sistein grubu

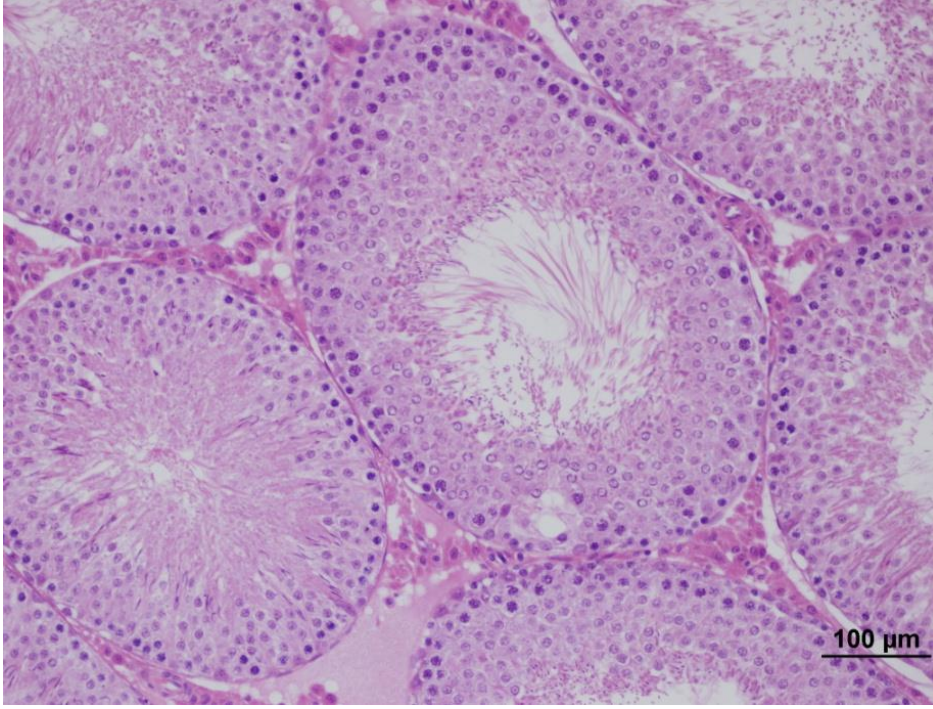
İnterstisyel alana bakıldığında kontrol grubuna benzer olduğu saptandı. Seminifer tübüllere bakıldığında ise akrilamit grubuna benzer durumlar gözlemlendi. Seminifer tübüllerde dev hücrelere rastlandı. Ancak dev hücre miktarının akrilamit grubuyla kıyaslandığında daha az olduğu saptandı (Şekil 4.17-4.18).



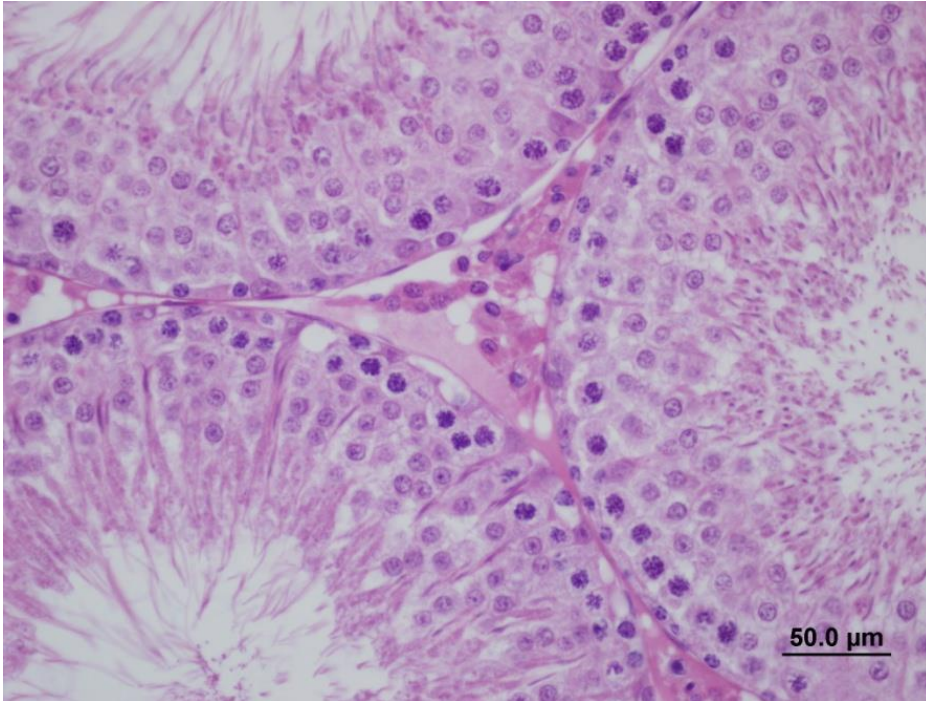
Şekil 4. 9 Kontrol grubuna ait testis dokusunun ışık mikroskobu görüntüsü. Normal yapıdaki seminifer tübüller, interstisyel alan ve spermatogenik hücreler görülmektedir (Bar=100 µm, H-E).



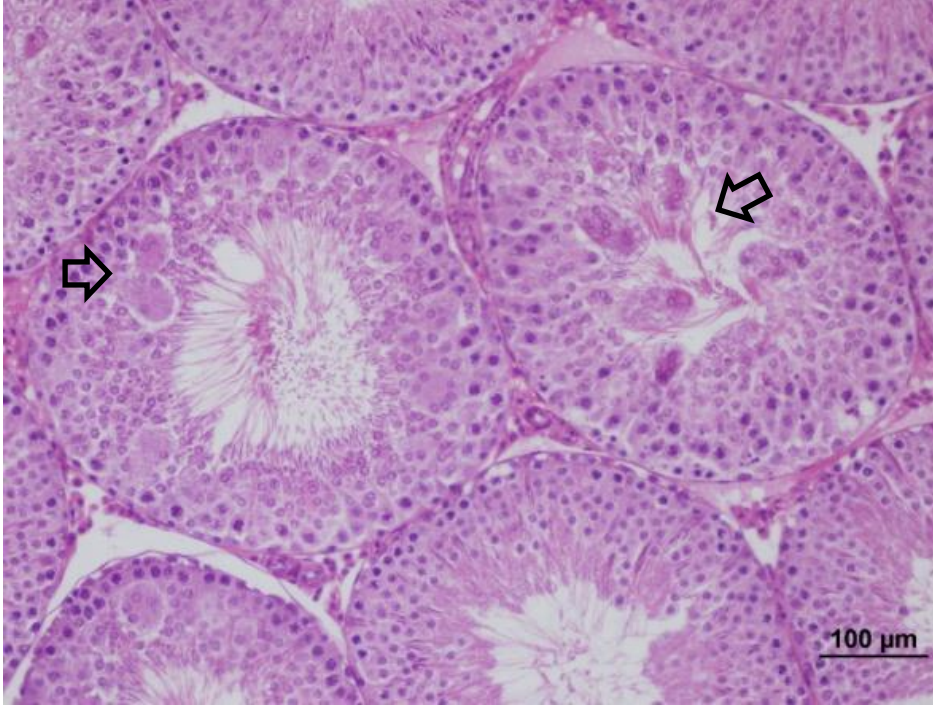
Şekil 4. 10 Kontrol grubuna ait testis dokusunun ışık mikroskobu görüntüsü. İntersitisyel alanda Leydig hücreleri ve seminifer tübül duvarında normal yapıdaki Sertoli ve spermatogenik hücreler görülmektedir (Bar= 50 µm, H-E).



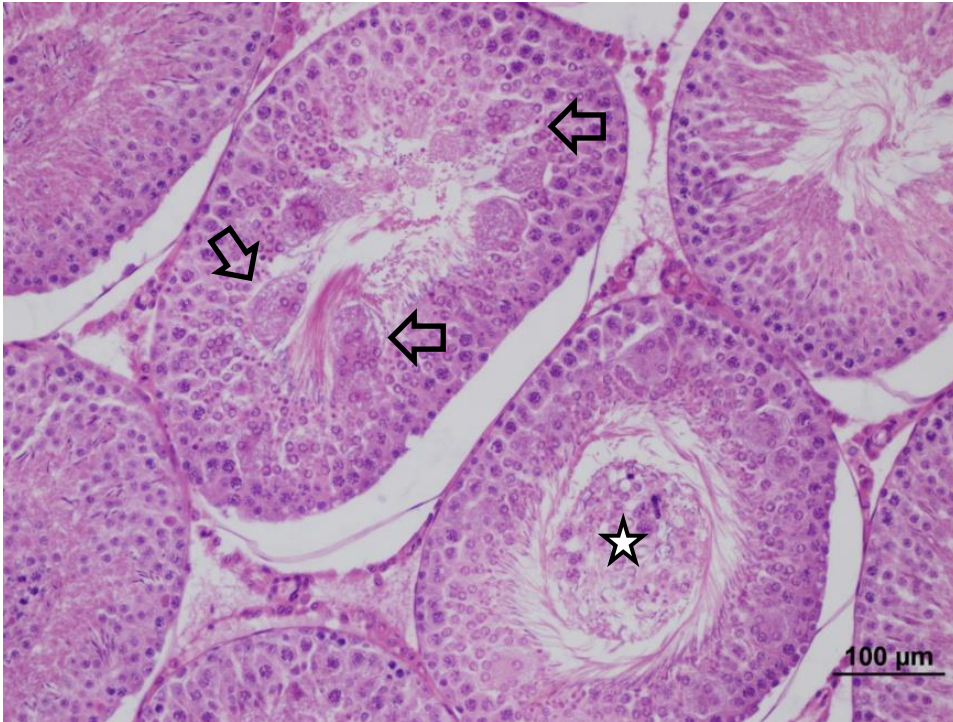
Şekil 4. 11 L-sistein grubuna ait testis dokusunun ışık mikroskobu görüntüsü. Seminifer tübüller ve interstisyel alanlar olağan histolojik görünüm sergilemektedir (Bar=100 µm, H-E).



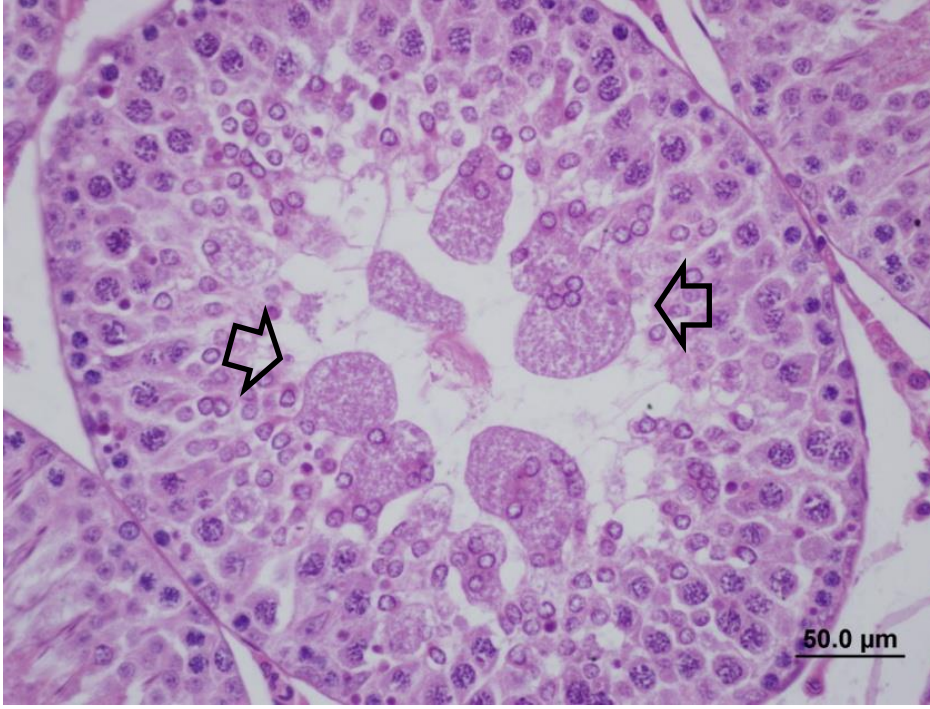
Şekil 4. 12 L-sistein grubuna ait testis dokusunun ışık mikroskobu görüntüsü. İnterstiyel alan, spermatogenik hücreler, Leydig hücreleri normal histolojik yapıda gözlemlendi (Bar=50 µm, H-E).



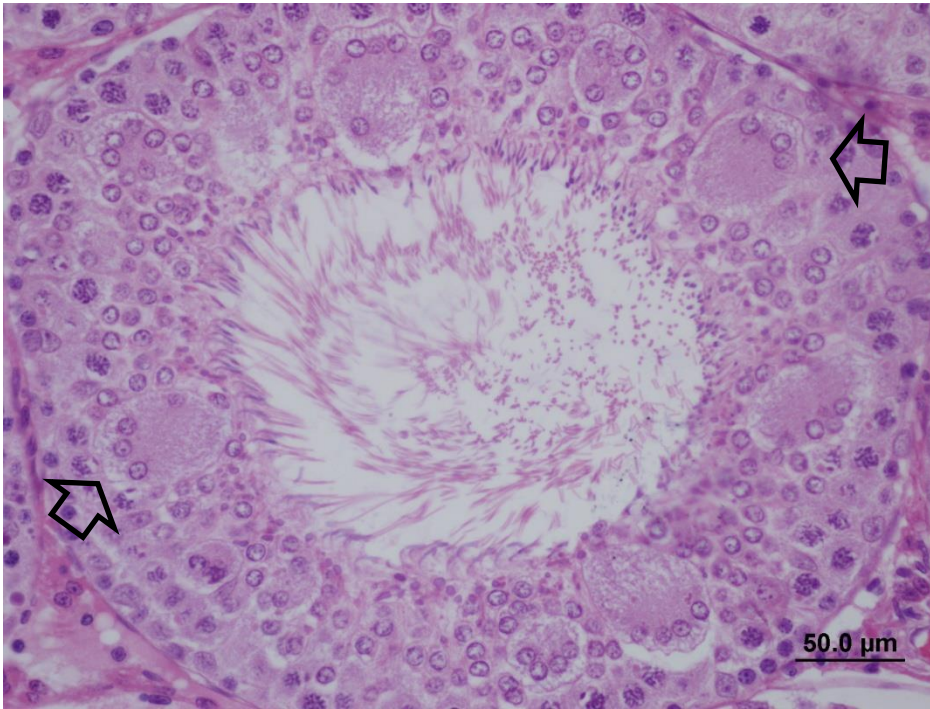
Şekil 4. 13 Akrilamit grubuna ait testis dokusunun ışık mikroskobu görüntüsü. Spermatogjenik hücreler arasında ve lümenine yakın bölgede dev hücreler (*oklar*) görülmektedir (Bar=100 µm, H-E).



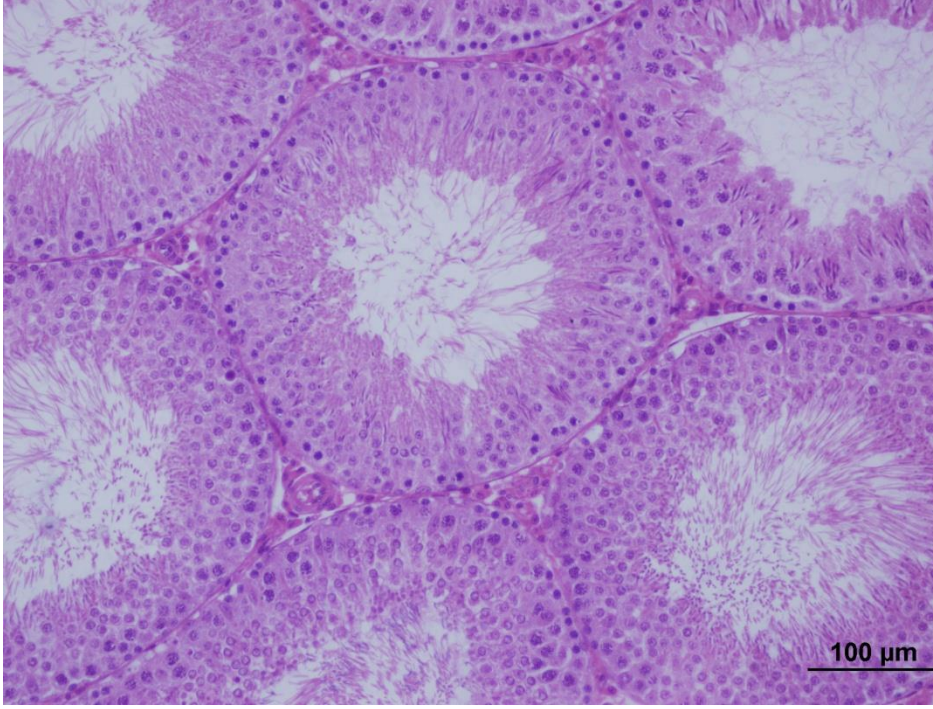
Şekil 4. 14 Akrilamit grubuna ait testis dokusunun ışık mikroskobu görüntüsü. Tübül lümenine yakın dev hücreler (*oklar*) ve tübül lümenine dökülmüş hücreler (*yıldız*) (Bar=100 µm, H-E).



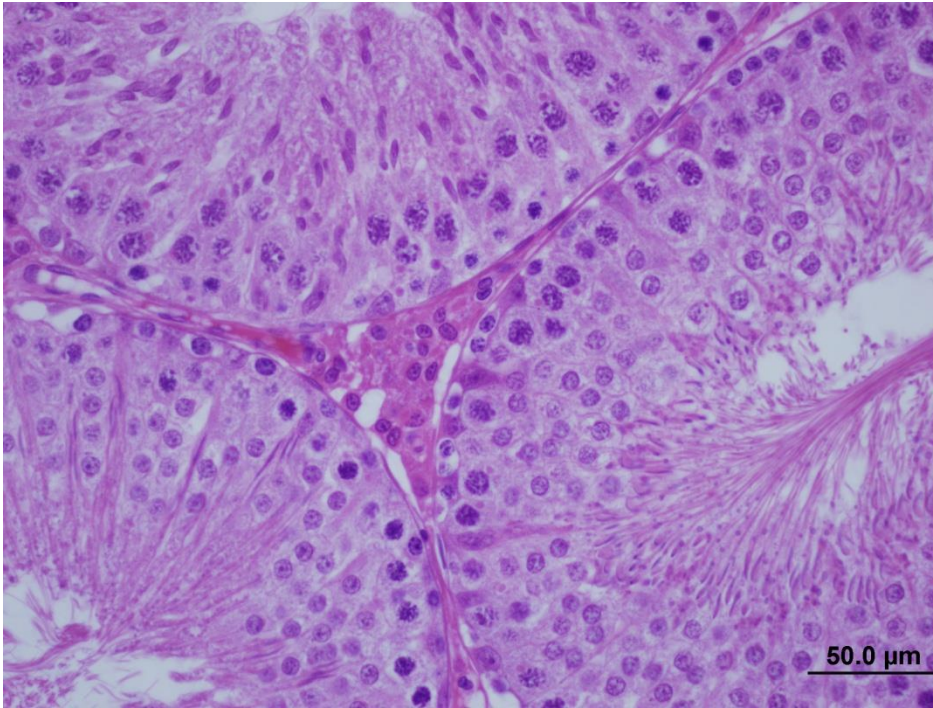
Şekil 4. 15 Akrilamit grubuna ait testis dokusunun ışık mikroskobu görüntüsü. Lümeneye dökülmeye yakın dev hücreler (*oklar*) (Bar=50 µm, H-E).



Şekil 4. 16 Akrilamit grubuna ait testis dokusunun ışık mikroskobu görüntüsü. Spermatogjenik hücreler arasındaki dev hücreler (*oklar*) (Bar=50 µm, H-E).



Şekil 4. 17 Akrilamit + L-sistein grubuna ait testis dokusunun ışık mikroskobu görüntüsü. Genel itibariyle spermatogenik hücre serisi, interstisyel alan ve Sertoli hücrelerinin normal histolojik yapıda oldukları ve dev hücrelerin bulunmadığı görülmektedir (Bar=100 µm, H-E).



Şekil 4. 18 Akrilamit + L-sistein grubuna ait testis dokusunun ışık mikroskobu görüntüsü. Seminifer tübüller ve interstisyel alanın normal histolojik yapıda olduğu ve dev hücrelerin bulunmadığı dikkati çekmektedir (Bar=50 µm, H-E).

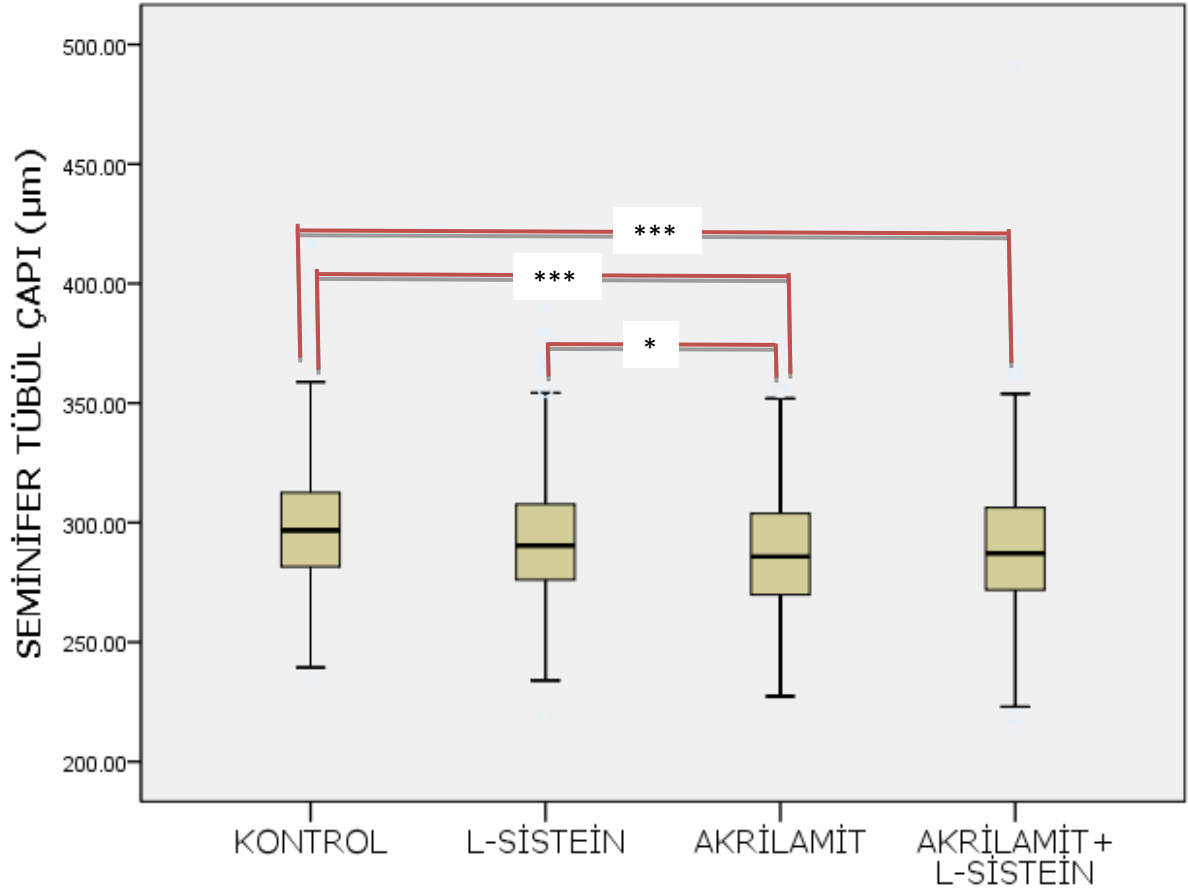
4.3. Morfometrik İnceleme

4.3.1. Seminifer túbül çapı ölçümü

İstatistiksel hesaplarda, kontrol grubu ve akrilamit grubu arasında ($p < 0.001^{***}$) ve kontrol grubuyla akrilamit + L-sistein grubu arasında ($p < 0.001^{***}$) istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur. Ayrıca L-sistein grubuyla akrilamit grubu ($p = 0,043^*$) anlamlı fark bulunurken, L-sistein grubuyla akrilamit + L-sistein grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir (Tablo 4.9, Şekil 4.10).

Tablo 4. 8 Testis seminifer túbül çapı ölçümleri

| | GRUPLAR | Median | (Q25-Q75) | P |
|--|-----------------------|---------------|------------------|-----------------------|
| SEMİNİFER TÜBÜL ÇAP ÖLÇÜMÜ (µm) | Kontrol | 296,8 | 281,5-312,6 | <0,001 ^{***} |
| | L-sistein | 290,4 | 276,1-307,7 | |
| | Akrilamit | 285,8 | 269,7-303,8 | |
| | Akrilamit + L-sistein | 287,2 | 271,5-306,4 | |



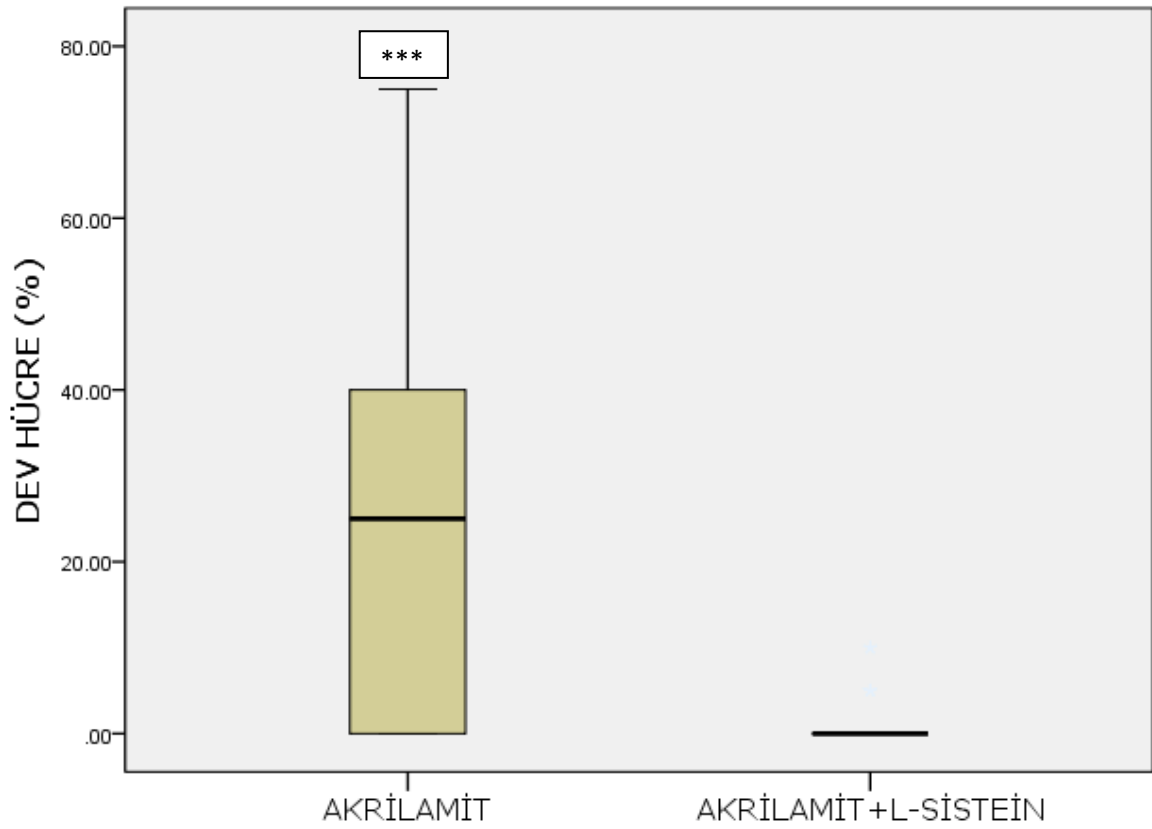
Şekil 4. 19 Gruplardaki seminifer tübül çapları. Gruplar arasında * $p < 0,05$, *** $p < 0,001$ düzeyinde anlamlı fark vardır.

4.3.2. Dev hücre sayımı

Akrilamit ve akrilamit + L-sistein grupları arasında ($p < 0.001^{***}$) istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu. Akrilamit grubunun seminifer tübüllerinde dev hücre görülme sıklığı akrilamit + L-sistein grubuna göre daha fazla bulundu (Tablo 4.8, Şekil 4.9).

Tablo 4. 9 Seminifer tübüllerinde dev hücre sayısı yüzdesi

| | GRUPLAR | Median | Q25-Q75 | P |
|---------------------------------------|-----------------------|--------|----------|--------------|
| % (Dev hücre sayısı /seminifer tübül) | Akrilamit | 25,0 | 0,0-40,0 | P < 0,001*** |
| | Akrilamit + L-sistein | 0,0 | 0,0-0,0 | |



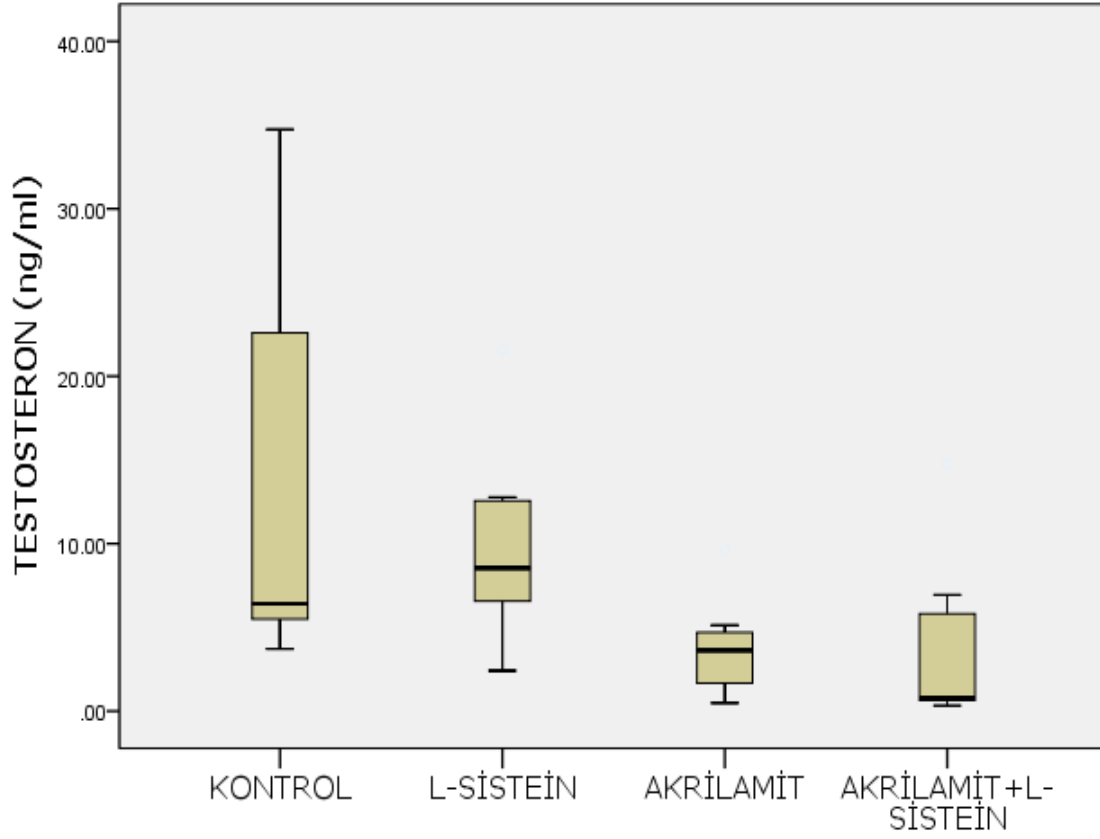
Şekil 4. 20 Seminifer tübüllerde dev hücre görülme sıklığı. Gruplar karşılaştırıldığında gruplar arasında *** p<0,001 düzeyinde anlamlı fark saptandı. Not: Kontrol ve L-sistein gruplarında dev hücreler olmadığından grafikte gösterilmemiştir.

4.4. Total Testosteron Ölçümü

Serum total testosteron sonuçlarına Kruskal Wallis analizi yapıldığında ANOVA tablosuna göre $p=0,029^*$ anlamlı fark bulunmuştur. Ancak çoklu karşılaştırma tablosu değerlendirildiğinde farklılığın neden kaynaklandığı hesaplanamamıştır. Bununla beraber akrilamit ve L-sistein+akrilamit gruplarının serum total testosteron miktarları kontrol ve L-sistein grubuyla kıyaslandığında daha az bulunmuştur (Tablo 4.10, Şekil 4.11).

Tablo 4. 10 Serum total testosteron ölçümleri.

| | GRUPLAR | Median | (Q25-Q75) | P |
|---|---------------------|---------------|------------------|-------------|
| TOTAL TESTOSTERON (ngml) | Kontrol | 6.42 | 5.18-25.98 | $P=0,029^*$ |
| | L-sistein | 8.54 | 4.67-12.77 | |
| | Akrilamit | 3.62 | 1.24-5.13 | |
| | Akrilamit+L-sistein | 0.75 | 0.60-6.94 | |



Şekil 4. 21 Gruplardaki testosteron miktarları. $p=0,029^*$ düzeyinde anlamlı bir fark bulunmuş olsa da çoklu karşılaştırma tablosu değerlendirildiğinde farklılığın neden kaynaklandığı hesaplanamamıştır.

4.5. Gözlemsel bulgular

Kontrol ve L-sistein grupları deney boyunca son derece aktif, hareketli ve canlıydılar.

Akrilamit verilen gruplarda ilk 3 gün boyunca aşırı sinirlilik ve hareketlilik gözlemlendi. Enjeksiyon sırasında diğer gruplara kıyasla daha hırçın ve aşırı hareketliydimler.

Akrilamit gruplarındaki hayvanlarda son 5 gün daha belirgin olmak üzere özellikle arka bacaklar geniş ve yayvandı (Şekil 4.12). Hayvanlar arka bacaklarını kullanmakta zorluk çektiler ve yürürken arka bacaklarını kullanamadıklarından abdominal kısımları zemine yapışık ilerlemekteydiler. Adeta kaslarını kullanamamaktaydılar. Ek olarak akrilamit grubu son derece uyuşuk, hareketsiz ve yavaş olarak gözlemlendi. Özellikle deneyin

son zamanlarında gün boyu birbirlerine yaslanarak uyku pozisyonunda olmaları ve daha az yemek yedikleri dikkat çekti.



Şekil 4. 22 Akrilamit grubu arka bacak yayvanlığı.

5. TARTIŞMA

Çalışmamızda elde edilen bulgular ışığında akrilamidin vücut ağırlığını ve testis ağırlığını azalttığı, ama testis indeksi ve serum testosteron miktarını anlamlı olarak değiştirmediği, testislerde bol miktarda dev hücreleri arttırdiği ve seminifer túbül çapında küçülmeye neden olduğu gözlemlendi. L-sisteinin vücut ağırlığına, testis ağırlığına, testosteron miktarına ve túbül çapı küçülmesine karşı koruyucu etki etmediği, ancak dev hücre miktarını azalttığı görüldü.

L-sistein, akrilamidin neden olduğu vücut ağırlığı azalmasına karşı istatistiksel düzeyde koruma sağlayamamıştır. Ama akrilamid+L-sistein grubu vücut ağırlığı bakımından çok varyasyon göstermiştir ve ağırlık ortamları akrilamid grubuna göre daha fazladır.

Grupların testis indekslerinde istatistiksel olarak anlamlı bir değişim olmasa da L-sistein grubu ile akrilamid + L-sistein gruplarında testis indeksleri çalışmamızda artmıştır. Bunun 2 açıklaması olabilir. İlk sebebi hayvanların vücut ağırlığının testis ağırlığına kıyasla daha fazla azalmasıdır. Bundan dolayı akrilamid asıl etkisini başka bir organa yapıyor olabilir. İkinci ve daha kuvvetli bir ihtimal testisin diğer organlara oranla ağırlığını daha çok koruyabilmesidir. Creasy ve arkadaşları testisin vücut ağırlığı düşüşüne karşı testisin ağırlığını koruduğu ve genellikle vücut ağırlığındaki bir azalmanın testis ağırlık indeksinin artmasıyla sonuçlandığını belirtmişlerdir (Creasy & Chapin, 2013).

Histopatolojik incelemelerde akrilamid grubunda birçok dev hücrelere rastladık. Bu dev hücrelerin görünmesiyle ilgili olarak, Rotter ve arkadaşları 1993'teki çalışmalarında p53 genini daha az ifade eden transgenik fareler kullanmışlardır. P53 geni DNA tamir mekanizmalarında görev almaktadır. Bu genin fazla ifade edilmemesi dev hücrelere neden olmuştur. Çalışmalarında transgenik farelerde dev hücre oluşumunun mekanizmasını 2 şekilde açıklamışlardır. İlk mekanizma olarak dev hücrelerin 4N primer spermatozoidlerin mayoz bölünme geçirerek haploid sperm hücreleri üretmemesinden kaynaklandığını belirtmişlerdir. Haploid spermatozoidleri üretmediklerinden primer spermatozoidler bir kez daha DNA'larını eşleyerek çok çekirdekli dev hücreler oluşturmuşlardır. İkinci bir dev hücre oluşma mekanizması olarak, spermatozoidler arası sitoplazmik bağlantıların kopmaması ve bu bağlantıların daha çok genişlemesiyle büyük hücre gruplarının dev hücrelere dönüşmesidir (Rotter vd., 1993).

Çalışmamızda akrilamid+L-sistein grubunda dev hücre sayısında bir azalma gözlemledik. Dev hücrelerin sayıca azalma sebebi, L-sistein bir nükleofil olduğundan bir elektrofil olan akrilamide veya yan ürünlerine bağlanarak akrilamidin primer spermatozoidlere bağlanmasını engelleyebilir

veya ikinci bir sebep olarak glutasyon öncülü olan L-sisteinin vücudun antioksidan kapasitesini arttırmamasından kaynaklanabilir.

L-sistein dev hücre sayısını azaltmasına rağmen, diğer parametrelere bakıldığında tam bir koruyucu etki gösterememiştir. Bunun sebebi L-sisteinin 40 mg/kg akrilamiti 10 günlük bir sürede engelleyememesi olabilir. 10 günde akrilamidin verdiği histopatolojik ve fizyolojik hasarı, bu süre zarfında vermiş olduğumuz L-sistein miktarı tam olarak korumaya uygun değildir. Vücut bu süre zarfında yeterli antioksidan üreterek, akrilamit ve yan ürünlerini yok edememektedir.

Çalışmamızdaki akrilamit grubundaki dev hücreleri 2 farklı şekilde gördük. Bir kısım dev hücreler spermatogenik serinin arasında oluşmuşken, bir diğer kısım dev hücreleri lümene dökülür vaziyette gözlemledik. Yukarıda da bahsettiğimiz üzere Rotter ve arkadaşlarının çalışmasında dev hücrelerin oluşumu primer spermatozoidlerin etkilenmesiyle oluşmaktadır. Deney süremiz 10 gün olduğundan, 10 gün akrilamitten etkilenen bir primer spermatozoidin dev hücre oluşturarak normal spermatogenik seri sürecinde lümene dökülmesi imkan dahilinde değildir. Bundan dolayı bu dev hücrelerin 10 gün içinde oluşup lümene dökülmesinin sebebi spermatogenik serinin normal sürecinden daha kısa sürede ilerleyerek dev hücrelerin lümene atılması olabilir. Bu sürenin kısalması primer spermatozoidten sonra normalde oluşacak olan sekonder spermatozoid ve spermatidler oluşmadığından, dev hücreler daha erkenden lümene dökülebilirler. Bazı tübüllerde spermatogenik seri hücrelerde lümene dökülen dev hücrelerle beraber kuyruklu spermatidlerin de görülmesi bu hızlanmayı destekler niteliktedir.

Gözlemsel incelemelerimizde akrilamit verilen sıçanlarımızda arka bacak yayvanlığı gözlemledik. Tyl ve Friedman (2003) bununla ilgili derlemelerinde akrilamitin motor proteinleri olan kinezin ve dyneine bağlandığını ve distal aksonopatiye yol açtığını bildirmişlerdir. Distal aksonopatinin nöron gövdesi ve akson arası taşınımı engelleyerek arka bacak yayvanlığına sebep olduğunu rapor etmişlerdir (Tyl & Friedman, 2003).

Serum total testosteron oranlarına bakıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark çıkmamıştır. Ama akrilamit ve L-sistein+akrilamit gruplarında testosteron miktarı en az seviyededir. Bu akrilamidin testosteronu azaltabileceğini ve L-sisteinin bu etkiyi azaltmadığını kısmen de olsa gösterir durumdadır.

Seminifer tübül çaplarına bakıldığında akrilamit seminifer tübül çapını azaltmıştır ve L-sisteinin koruyucu bir etkisi olmamıştır. Creasy ve arkadaşlarına göre tübül çapınının küçülmesinde 2 ana etken vardır. Germ hücre kaybı ve Sertoli hücreleri tarafından salgılanan seminifer tübül sıvısıdır. Ayrıca kuyruklu spermatidlerin varlığı bu sıvının salınımında düzenleyici etkiye sahiptir (Creasy & Chapin, 2013). Bu bilgiler ışığında

akrilamit seminifer tübül çapını azalttığından ve seminifer epitelde gözle görülür bir spermatogenik hücre serisi eksikliği incelemelerimizde göze arpmadığından, akrilamitin seminifer tübül sıvısını azaltarak tübül çapını azalttığı söylenebilir. Ayrıca alışmamızda dev hücrelerin lümene döküldüğü tübüllerde kuyruklu spermatidlerin olmadığı gözlendi. Bu da seminifer tübül sıvısının azalmasını destekler niteliktedir.

Ma ve arkadaşları (2011) akrilamidin remeye etkisini göstermek için 3 haftalık sütten kesilmiş Sprague-Dawley sıçanlarına farklı dozlarda (0, 5, 15, 30 mg/kg/gün) haftada 5 kez 4 hafta boyunca gavaj yoluyla akrilamit vermişlerdir. Serum lmnde testosteron ve FSH hormonlarının arttığı, LH hormonu seviyesinin azaldığı bildirilmiştir. 5 ve 15 mg akrilamit uygulanan gruplarda testosteron seviyesi kontrole oranla artarken, 30 mg akrilamit uygulanan grupta testosteron seviyesinin tekrardan kontrol seviyesine düştüğü gözlemlenmiştir. Aynı zamanda 30 mg akrilamit uygulanan gruplarda testis organ indeksinin azaldığı görülmüştür. Bununla birlikte histopatolojik değişiklikler ve anormal spermeler görülmüştür. Seminifer tübüllerinde hücrelerin dejenerasyonu, spermatozoanın ve Leydig hücrelerinin azaldığı gözlemlenmiştir. Ma ve arkadaşları bu çalışmada akrilamidin kan-testis bariyerini geçerek erkek üreme organlarına ulaştığını ve zarar verdiğini bildirmişlerdir. Yine Ma ve arkadaşları 15 ve 30 mg akrilamit uygulanan hayvanların az yemek yediklerini ve hareketliliklerinin azaldığını gözlemlemiştir. Aynı zamanda 30 mg akrilamit uygulanan hayvanlarda arka bacak yayvanlığı ve kaslarda zayıflama görüldüğü bildirilmiştir (Ma vd., 2011). Bizim alışmamızda da akrilamit uygulanan gruplarımızda arka bacak yayvanlığı görüldü. Az yemek yedikleri ve yürüme de zorluk çektikleri gözlemlendi. Aynı zamanda akrilamit uygulanan hayvanların diğerlerine göre daha hareketsiz olduğu görüldü. Bu çalışmayla zıt olarak biz testis ağırlık indeksinin veya organ indeksinin istatistiksel olarak anlamlı olmasa da arttığını gördük. Bu çalışmada testosteron hormonu miktarında düşük akrilamit dozlarında bir artış olurken, 30 mg'lık dozdan sonra testosteron miktarının düşmeye başladığı ve kontrol grubuna yaklaştığı gözlemlendi, bununla paralel olarak 40 mg akrilamit verilen gruplarımızda istatistiksel olarak anlamlı olmasa da testosteron miktarında azalma görülmüştür. Bu sonuçlar dahilinde 30 mg/kg dozundan daha düşük akrilamit testosteronu arttırıp Leydig hiperplazisine neden olurken, 30 mg'dan yukarı dozlarda akrilamit testosteron miktarını azaltmak için eşik doz olabilir. Başka bir yönden bakarsak üreme hormonlarının aralıklı bir şekilde salınımı hormon ölçümlerinde aşırı bir varyasyona neden olmaktadır. Testosteron hormonlar arasında, bireyler arasında ve hatta aynı bireyde gün içinde en çok varyasyon gösteren hormonlardan biridir. İkinici bir sebep olarak varyasyondan dolayı farklı testosteron düzeyleri ölçümü gerçekleşiyor olabilir.

Yang ve arkadaşları (2005) 5, 15, 30, 45 ve 60 mg/kg akrilamidi gavaj yoluyla 5 gün boyunca Sprague-Dawley sıçanlarına uygulamıştır. Sonunda hayvanlarda sperm konsantrasyonu azalması, morfolojik sperm

bozuklukları gözlemlemiştir. Aynı zamanda testosteron miktarı ve Leydig hücre sayısında azalma saptamıştır. Histolojik incelemesinde akrilamid uygulanan gruplarda birçok dev hücre oluşumları, vakuolleşmeler ve apoptotik hücre sayısında artma olduğu bildirilmiştir (H. J. Yang vd., 2005a). Biz de çalışmamızda Yang ve arkadaşlarının çalışmasına benzer bir biçimde birçok dev hücreyi gözlemledik ve özellikle dev hücrelerin bulunduğu tübüllerde sperm konsantrasyonunun daha az olduğunu gözlemledik. Yine bu çalışmayla paralel olarak testosteron miktarında azalma olmuştur.

Yine Yang ve arkadaşları başka bir çalışmada 5, 15, 30, 45 ve 60 mg/kg akrilamidi gavaj yoluyla 5 gün boyunca Sprague-Dawley sıçanlarına uygulamıştır. Özellikle 45 ve 60 mg akrilamid uygulanan gruplarda vücut ağırlıklarında ve testis ağırlıklarında azalma olduğu görülmüştür. Epididimiste sperm konsantrasyonu azalmış ve seminifer tübüllerde lezyonlar görülmüş ve aynı zamanda özellikle 60 mg akrilamid uygulanan gruplarda birçok dev hücreler gözlemlenmiştir (H. J. Yang vd., 2005b). Bizim çalışmamızda da dev hücrelere ek olarak sıçanların vücut ağırlıkları ve testis ağırlıkları istatistiksel olarak anlamlı bir biçimde azalmıştır.

Sakamoto ve Hashimoto 4-6 hafta boyunca hayvanların suyuna katarak akrilamid vermişlerdir. Sonra erkek hayvanların yarısı dişilerle çiftleştirilmiş diğer yarısı üreme organlarının kontrolü için deney sonrası kesilmiştir. Gebe dişilerde implantasyonların saptanması için uterusları 13.günde açılmıştır. Sonuç olarak implantasyon sayısında ve doğurganlık oranında azalma görülmüştür. Erkek farelerde anormal sperm morfolojisi ve sperm sayısında azalmalar bildirilmiştir. Arka bacak yayvanlığının yanı sıra testis ağırlık indeksinde azalma gözlemlenmiştir (Junko Sakamoto & Hashimoto, 1986). Bizim çalışmamızda arka bacak yayvanlığı gözlemlendi fakat testis ağırlık indeksinde bir değişim gözlenmemiştir.

Mustafa ve arkadaşlarının 2012'de yaptığı çalışmada 250-300 g ağırlığında 6 grup (n=8) ve 85-90 günlük Sprague-Dawley sıçanlarına 10 gün boyunca 25 ve 50 mg akrilamid hem oral yolla hem intraperitoneal olarak uygulanmıştır. Sonuç olarak germ hücrelerinin azalması, seminifer epitelin lümene dökülmesi, apoptotik hücrelerde artış, anormal DNA miktarında artış, çok çekirdekli dev hücreler, interstisyel alanda kan toplamış damarlar gözlemlenmiştir (Mustafa, 2012). Biz de çalışmamızda seminifer epitelin dev hücreler halinde lümene döküldüğünü gözlemledik.

Wang ve arkadaşlarının (2010) çalışmasında 3 haftalık 30 adet Sprague-Dawley sıçanlarına 3 grup halinde sırasıyla distile su, 5 mg ve 10 mg akrilamid vermiştir. Çalışma sonucunda sıçanların vücut ağırlığı, testis ve epididimis ağırlıkları azalırken testis ve epididimis indekslerinin (relatif ağırlıkları) değişmediği, sperm rezervlerinde azalma gözlemlendiği ve Leydig hücrelerinin hiperplazi dolayısıyla arttığı

bildirilmiştir. Özellikle 10 mg akrilamit verilen grupta germ hücrelerinin azaldığı ve vakuolleşme saptandığı da rapor edilmiştir (Wang vd., 2010). Bizim sonuçlarımızda testis ağırlık indeksinde Wang ve arkadaşlarının çalışmasıyla tutarlı olarak herhangi bir değişime rastlamadık. Aynı şekilde testis ve vücut ağırlıklarında azalma gözlemedik.

Camacho ve arkadaşlarının (2012) çalışmasında Fischer 344 sıçan türü kullanılmıştır. Sıçanlara 14 gün boyunca içme suyunda her gün 2,5 mg/kg, 10 mg/kg ve 50 mg/kg doza karşılık gelecek şekilde farklı konsantrasyonlarda akrilamit verilmiştir. Akrilamitin doza bağlı olarak serum testosteron düzeyini düşürdüğünü, LH'yi arttırdığı gözlemlenmiştir. Ayrıca germ hücrelerinin lümene dökülmesi, germ hücresi eksikliği, spermatid hücre gecikmesi ve primer spermatositlerde apoptosis gibi histopatolojik durumların doza bağlı olarak arttığı görülmüştür. Bunun yanında testis ağırlığı 50 mg/kg doz akrilamit verilen grupta düşerken, total Leydig hücre sayısında gruplar arasında bir farklılığa rastlanmamıştır. (Camacho vd., 2012). Bizim çalışmamızda da bu çalışmayla paralel olarak testis ağırlıkları akrilamit verilen gruplarda düşmüştür ve bazı sıçanlarda germ hücre dökülmesine rastlanmıştır. Yine bizim çalışmamızda total testosteron seviyesi anlamlı olarak düşme de kontrole göre bir düşüş söz konusudur.

Nixon ve arkadaşları (2014) Swiss farelerini kullandığı çalışmasında germ hücrelerini izole etmiş ve spermatositleri in vitro koşullarda 18 saat boyunca 1 μ M akrilamit veya 0.5 μ M glisamite maruz bırakmışlardır. Deney sonunda CYP2E1 geninin ifadesine (akrilamiti metabolize eden enzimin geni), hangi hücrelerde daha çok görüldüğüne, ksenobiyotiklerin DNA katım miktarına ve hücresel glutatyon miktarına bakılmıştır. Sonuç olarak CYP2E1'in germ hücrelerinde en çok spermatositte ifade edildiğini ve akrilamite maruz kalınca spermatositte upregüle olduğunu bulmuşlardır. Ayrıca akrilamit ve glisamitin DNA katımı oluşturdukları ve oksidatif hasarın DNA hasarına daha az yol açtığını bildirmişlerdir. Bunlara ek olarak hücrelerin glutatyon miktarları değişmemiştir. En son germ hücrelerinin akrilamite karşı antioksidanlarla değil de daha çok detoksifikasyon enzimleriyle karşılık verdiğini ve DNA'ya hasarı daha çok akrilamidin yan ürünü olan glisamitin verdiğini rapor etmişlerdir (Nixon vd., 2014).

Rajeh ve arkadaşları 2011 yılındaki çalışmalarında, Sprague-Dawley sıçanlarına 5 gün boyunca oral yolla 5, 15, 30, 45 ve 60 mg/kg/gün akrilamit vermişler ve son dozdan 72 saat sonrasında hayvanları sakrifiye etmişlerdir. Özellikle 45 ve 60 mg/kg akrilamit verilen gruplarda saldırganlık, testislerinde büyüme, arka bacaklarında zayıflık ve dengesiz hareket etme gözlemlenmişlerdir. Hayvanların ağırlıkları 5. günün sonuna kadar önemli derecede azalmış fakat son 3 günde bazılarında artış gözlemlenmiştir. Testis ağırlık indekslerinin 15, 45 ve 60 mg/kg akrilamit verilen gruplarda istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı, 5 ve 30 mg/kg akrilamit verilen gruplarda testis ağırlık indeksinin arttığını ancak

bu artışın anlamlı olmadığını bildirmişlerdir. Sperm rezervlerinde azalma ve anormal spermler gözlemlenmiştir. Histolojik olarak germinal hücrelerde dejenerasyon, bazal vakuolleşmeler, çok çekirdekli dev hücreler, atrofi olmuş Leydig hücreleri ve lümeninde daha az spermatozoa görüldüğü ifade edilmiştir (Rajeh, Al Saggaf, Ayuob, & ElAssouli, 2011). Bizim çalışmamızda da akrilamid gruplarında Rajeh ve arkadaşlarının çalışmalarına benzer bir şekilde testis ağırlık indeksinde artış gözlemlendi, fakat artış istatistiksel olarak anlamlı değildi. Bu çalışmayla paralel olarak çalışmamızda akrilamid verilen gruplarda vücut ağırlıklarında anlamlı bir azalma olmuştur ve enjeksiyon esnasında ilk 5 gün boyunca akrilamid verilen gruplarda aşırı saldırganlık gözlemlenmiştir.

Gutierrez-Espeleta ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada erkek farelere lomber bölgesindeki deri tıraş edilerek 25, 50, 75, 100 ve 120 mg/kg akrilamid 5 gün boyunca deriye emdirilme yoluyla verildikten sonra erkek fareler dişilerle çiftleştirilmiş ve gebe dişi sayısı ve gebelerde aynı zamanda implante olan embriyo sayısına bakılmıştır. Sonuç olarak çalışmada erkek üreme hücrelerinin genetik hasara uğradığı ve baskın ölümcül mutasyonlara yol açtığı bildirilmiştir (Gutierrez-Espeleta vd., 1992).

Tyl ve arkadaşları 2000 yılında 11 haftalık Long-Evans sıçanlarıyla yaptığı çalışmada sıçanlara 5 gün boyunca 0, 5, 15, 30, 40 ve 60 mg/kg akrilamidi 5 gün boyunca oral yolla vermiş ve 8. gün dişi sıçanlarla çiftleştirmişlerdir. Çalışma sonunda 15, 30, 45 ve 60 mg akrilamid uygulanan sıçanların vücut ağırlığı önemli derecede azalmış, dozla orantılı olarak dengesiz hareket etme ve bazılarında piloereksiyon, killarda kabalaşma ve uyuşukluk gözlenmiştir. Gruplar arası ön bacak kavrama gücü eşit bulunurken, arka bacak kavrama gücü özellikle 60 mg akrilamid uygulanan grupta çok düşük bulunmuştur. Dişilerle çiftleşebilen erkek sayısı ve çiftleştikten sonra gebe kalan dişi sayısı doza bağlı olarak azalmıştır. Implante olan canlı embriyo sayısı azalmıştır (Tyl vd., 2000). Benzer şekilde bizim çalışmamızda da akrilamid uygulanan hayvanlarda vücut ağırlığı düşmüş ve deney sonuna doğru hayvanlarda genel bir uyuşukluk gözlemlenmiştir.

Abramsson-Zetteberg 2003'teki çalışmasında erkek CBA farelerini kullanmıştır. Farelere intraperitoneal olarak farklı dozlarda akrilamid vererek akım sitometri bazlı fare mikronükleus analizi yapmıştır. Sonuçta doza bağlı olarak farelerde mikronükleus sayısının arttığını gözlemlenmiştir. Bunun da akrilamidin genotoksik olduğunun göstergesi olduğunu bildirmişlerdir (Abramsson-Zetterberg, 2003).

Shelby ve arkadaşları erkek farelere farklı dozlarda i.p. olarak akrilamid vermişler ve dişi bireylerle farklı günlerde çiftleşmeleri sağlanmıştır. Deney sonunda implante olan embriyo sayıları, gebe fare sayıları gibi parametrelere bakılmıştır. Sonuç olarak akrilamidin geç

spermatidlerde ve spermatozoada ölümcül mutasyonlara neden olduğu bulunmuştur (Shelby, Cain, Hughes, Braden, & Generoso, 1986).

Shelby ve arkadaşları bir başka çalışmalarında erkek farelere i.p. olarak 40 ve 50 mg/kg akrilamit vermişler, daha sonra dişilerle çiftleştirmişler ve sonuçta akrilamidin erkek farelerde kalıtsal translokasyonlara yol açtığını bildirmişlerdir (Shelby vd., 1987).

Sega ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, 12-18 haftalık hibrit fareler kullanılmıştır. Sega ve arkadaşları farelere farklı dozlarda i.p. olarak akrilamit vermiştir ve farklı saat aralıklarında zamanlanmış DNA sentezi (UDS) miktarlarına bakmışlardır. 6 saat gibi bir sürede testiste UDS miktarının en fazla olduğunu görmüşlerdir. Bu gecikmeden dolayı akrilamidin DNA'ya direkt değil başka bir ara ürün olan glisamit aracılığıyla bağlandığını öne sürmüşlerdir. Aynı zamanda çalışmada geç spermatid ve spermatozoanın DNA tamiri yapamadıklarından akrilamitten daha çok zarar gördüklerini ileri sürmüşlerdir (Sega vd., 1990).

Tyl ve Friedman 2003 yılındaki derlemelerinde akrilamitin ve akrilamitin bir yan ürünü olan glisamitin spermatidlerin protaminlerine bağlandığını ve bu şekilde baskın ölümcül mutasyonlara neden olduğunu öne sürmüşlerdir. Aynı zamanda çalışmalarında DNA ile geri dönüşümsüz bağ yapan glisamitin akrilamitten daha fazla mutasyona neden olduğunu rapor etmişlerdir (Tyl & Friedman, 2003).

Aruoma ve arkadaşları bir sistein türevi olan NAC' ı in vitro uygun koşullarda 4 farklı oksidanla inceleyerek herbirine karşı antioksidan kapasitesini ölçmüşlerdir. Hipoklorik aside karşı (H-OCl) ve hidroksil radikaline karşı (-OH) çok güçlü bir antioksidan olarak bulunurken, hidrojen peroksitle (H₂O₂) daha yavaş reaksiyona girdiği ve süperoksitle reaksiyona girmediği gözlemlenmiştir (Aruoma vd., 1989). NAC' da sadece SH grubu varken, L-sisteinde SH ve NH₃⁺ grupları bulunmaktadır. (Rayburn & Friedman, 2010).

Claeys ve arkadaşları 2005 yılında yüksek sıcaklıklarda yiyeceklerde akrilamit oluşumuna karşı farklı aminoasitlerin bir etkisi olup olmadığını araştırmıştır. In vitro koşullarda oluşturdukları reaksiyon ortamına L-sistein, lizin, glutamin ve alanini eklemişlerdir. 140 ve 200 °C arasında yaptıkları incelemede L-sisteinin ve lizinin artan sıcaklıklarda akrilamit miktarını azalttığını, diğer aminoasitlerin etki etmediğini bildirmişlerdir. L-sisteinin akrilamit miktarını azaltma mekanizmasının olasılıkla L-sisteinin sulfhidril grubunun akrilamidin vinil grubuna bağlanma afinitesinden kaynaklandığını belirtmişlerdir (Claeys vd., 2005).

Solomon ve arkadaşları pH=7 ve 37 °C'de buzağı timüs DNA'sı ile yaptıkları in vitro çalışmada akrilamidin DNA ile reaksiyona girdiğini, özellikle adenine bağlandığını bildirilmişlerdir (Rajeh vd., 2011).

Katen & Roman'ın 2014 yılındaki derlemelerinde kronik olarak düşük dozda akrilamite maruz kalan farelerde akrilamit yan ürünü olan glisamitin spermatozoidlere bağlanmasından dolayı DNA hasarının arttığını ve hatta hasarın sperm olgunlaşması ve döllenmeye kadar taşınabildiğine değinilmiştir. Akrilamite maruz kalan gelecek nesillerin kanser gibi bazı hastalıklara yatkınlığının arttığı rapor edilmiştir (Katen & Roman, 2014).

Kermani-Alghoraishi ve arkadaşları 2010 yılında 8-10 haftalık, 25-30 g farelere içme suyuyla iki ay boyunca 5 ve 10 mg/kg akrilamit vermişlerdir. 2 ay sonra sperm parametre analizi ve zar bütünlüğünü değerlendirmek üzere hipoozotik şişme testi yapılmıştır. Sonuç olarak akrilamitin farelerin sperm zarı bütünlüğünü bozduğu, canlı sperm sayısını azalttığı, anormal sperm oluşumunu tetikleyerek sperm hareketliliğini azalttığı bildirilmiştir (Kermani-Alghoraishi vd., 2010).

Yassa ve arkadaşlarının 2014 yılındaki çalışmalarında 180-200 g Sprague-Dawley sıçanları kullanılmıştır. 90 gün boyunca sıçanlara 15 mg/kg ve 30 mg/kg oral olarak akrilamit verilmiş ve yeşil çay ekstraktının etkisine bakılmıştır. Sadece akrilamit verilen gruplarda germ hücrelerinde dejenerasyon, tübüllerde küçülme ve dev hücre oluşumu görülmüş, vücut ağırlıkları azalmış ve testosteron seviyesi düşmüştür. Yeşil çay ekstrektıyla beraber akrilamit verilen gruplarda önemli derecede bir düzelleme saptanmıştır (Yassa, George, Refaiy Ael, & Moneim, 2014). Benzer bir şekilde bizim çalışmamızda da akrilamit verilen gruplarda seminifer tübül çapları küçüldü, seminifer epitelde birçok dev hücrelere rastlandı ve vücut ağırlıklarında düşüş gözlemlendi. Ayrıca bizim çalışmamızda total testosteron seviyesi anlamlı olarak düşme de kontrole göre bir düşüş söz konusudur.

Şen ve arkadaşları 2015 yılında ortalama 25 g ağırlığında mus musculus türündeki dişi farelere gebeliğin 6. gününden, doğum sonrası 21. güne kadar 14 mg/kg akrilamit vermişler ve bu periyot içerisinde yavru erkek fareler, incelenmişlerdir. Sonuç olarak doğan yavruların doğum ağırlığı ve testis indeksleri kontrole göre düşük bulunmuşlardır. Deney sonunda yaptıkları histopatolojik incelemelerde ise akrilamite maruz kalan farelerde seminifer tübüllerde atrofi, dev hücreler, bağ dokusunda deformasyon, Leydig, Sertoli ve spermatogenik hücrelerde azalma görülmüştür (Sen, Tunali, & Erkan, 2015). Bizim çalışmamızla kıyaslandığında, biz de akrilamite maruz kalan sıçanlarımızda ağırlık düşüşü gözlemledik. Akrilamit hem organlara verdiği zararlarla birlikte gelişen deformasyon ve toksisiteden hemde hayvanların iştahını kesmesinden dolayı vücut ağırlığında azalmaya neden olmaktadır. Bu çalışmada testis indeksi düşmesine rağmen bizim çalışmamızda değişmemiştir. Bu fark çalışılan hayvan grubunun farklı olmasından veya erişkin ve yavru bireyler arasındaki farklılıktan kaynaklanabilir.

Rayburn ve Friedman 2010 yılında kurbağa embriyolarında akrilamidin yol açtığı malformasyon ve ölümcül etkilere karşı L-sistein,

NAC, glutatyon ve glisinin koruyucu etkisini araştırmışlardır. Akrilamidle aynı konsantrasyonda verilen L-sistein ve glutatyonun hem malformasyona hem de mortaliteye karşı embriyoları korudukları, NAC'nin ise sadece mortaliteye karşı etkili olduğunu glisin de 10 kat daha fazla konsantrasyonda verilmesine rağmen herhangi bir koruyucu etkisinin olmadığını saptamışlardır (Rayburn & Friedman, 2010).

Alturfan ve arkadaşları 2012 yılında, 200-250 g ağırlığındaki Wistar albino sıçanları, 4 gruba (n=6) ayırmışlar ve sırasıyla i.p. olarak sadece salin, sadece NAC (150 mg/kg), akrilamit (40 mg/kg) ve akrilamit+ L-sistein vermişlerdir. 10. gúnün sonunda hayvanların kan örnekleri alınmış ve çeşitli dokuları çıkartılmıştır. Akrilamit grubunda glutatyon miktarı azalırken ve oksidatif doku hasarını gösteren parametreler, enzimler, sitokin düzeyleri ve apoptoz artarken NAC verilen grupta ise glutatyon miktarı tekrar normal düzeye geldiği ve oksidatif hasarı gösteren parametrelerin, sitokin düzeylerinin ve apoptozun düzeldiği gözlemlenmiştir. Kısaca, NAC'nin farklı dokuları nötrofil infiltrasyonunu engelleyerek, oksidan-antioksidan dengesini sağlayarak ve inflamatuvar mediatörleri düzenleyerek koruduğu bildirilmiştir (E. I. Alturfan vd., 2012b).

Reddy ve arkadaşlarının 2011 yılında 60-70 gúnlik ve 25-30 g ağırlığındaki Swiss albino erkek fareleri üzerinde bir çalışma yapmışlardır. Bir sistein türevi olan NAC'nin arsenikle hasar verilen farelerde vücut ağırlığı ve testis ağırlığını düzeltdiği, steroidogenezi normal seviyelere getirdiği, sperm kalitesini arttırdığı ve testiküler yağ peroksidasyonunu yükseltdiğini göstermişlerdir. NAC'nin sadece glutatyon öncülü değil, aynı zamanda thiol grubu içeren bir antioksidan ve bir şelatör olduğunu belirtmişlerdir (Reddy vd., 2011). Çalışmamızda thiol içeren bir antioksidan olan L-sistein sıçanların vücut ağırlığına ve testis ağırlıklarına bu deneydeki gibi istatistiksel olarak anlamlı bir koruma sağlamamıştır. Ama akrilamit grubuyla kıyaslandığında bir artış söz konusudur.

Yine Ahmed ve arkadaşları erkek albino sıçanlara sisplatin vererek testiste oksidatif hasar oluşturmuşlar ve 24 saat önceden verilen antioksidanların (Vitamin C, DPPD ve L-sistein) etkisine bakmışlardır. Sonuç olarak, 100 mg/kg olarak verilen L-sistein testiste apoptotik hücre sayısını ve yağ peroksidasyonunu azaltmıştır. Aynı zamanda histolojik olarak dokularda bir iyileşme sağlamıştır (Ahmed vd., 2011). Bizim çalışmamızda da L-sisteinin dev hücreleri azaltarak histolojik olarak bir iyileşme sağladığı söylenebilir.

Ciftci ve arkadaşları 120 idiopatik infertilitesi olan 120 hastaya 3 ay boyunca oral olarak 600 mg NAC vermişlerdir. Sonuç olarak hacim, hareketlilik ve viskosite gibi semen parametrelerinde iyileşme sağlanmış ve reaktif radikaller azalmıştır (Ciftci vd., 2009).

Farombi ve arkadaşlarının 2008 de yayınlamış oldukları çalışmada erkek albino Wistar sıçanlara 14 gün boyunca tetrasiklin uygulanarak hasar verilmiş vitamin C ve NAC'nin etkisi araştırılmıştır. Sonuç olarak 50 mg/kg oral yolla verilen bir sistein türevi olan NAC histolojik olarak herhangi bir etki göstermemiştir. Ama sperm parametrelerini düzelterek, sperm sayısını arttırmış ve anormal sperm miktarını azaltmıştır. Aynı zamanda glutatyon, testis enzimleri ve testosteron miktarını arttırmıştır (Farombi vd., 2008). Bizim çalışmamızda bu çalışmadan farklı olarak akrilamit+L-sistein grubunda L-sistein serum testosteron miktarına pozitif bir etki yapamamıştır.

Kim ve arkadaşları 2005'te işlenmiş ve yüksek ısıya maruz bırakılmış yiyeceklerde akrilamit miktarını azaltmak için çeşitli aminoasitlerle kızarmış yiyecekleri muameleye tutmuşlardır. Bu çalışmada L-sistein glisin ve lizinle beraber akrilamit miktarını yüksek oranda azaltmıştır (Kim vd., 2005).

Zou ve arkadaşları (2015) asparagin-glukoz model sisteminde sistein ve glisinin yüksek sıcaklığa maruz kalan yiyeceklerde akrilamit miktarına etkisini çalışmışlardır. Bu çalışmada sistein tek olarak veya glisinle beraber model sistemine konulmuş ve bisküvide akrilamit miktarı LC/MS (Sıvı Kromatografisi-Kütle Spektrometresi) metodu ile ölçülmüştür. Sonuçta sisteinin tek başına veya glisinle beraber konulduğunda bisküvide akrilamit miktarını büyük oranda azalttığı ortaya çıkmıştır (Zhou vd., 2007).

Friedman ve Levin 2008 yılındaki derlemelerinde akrilamidin nasıl azaltılacağına dair birçok fikir sunmuşlardır. Bunlar;

- Akrilamit oluşmasında en çok Maillard reaksiyonuna giren asparajin ve glukozu az içeren patates ve hububatı seçmek,
- Muamele öncesi akrilamit öncüllerini kaldırmak,
- Asparajini aspartik asite dönüştürmek için enzim asparajinazı kullanmak,
- Besinlerin işleme tabi tutulacak koşullarını akrilamidin minimum oluşacağı koşullara ayarlamak,
- Akrilamit oluşumunu azalttığı rapor edilen maddeleri işlem öncesinde eklemek (L-sistein, sarımsak, aminoasitler, antioksidanlar gibi),
- Oluşan akrilamidi polimerizasyon, buharlaştırma ve sair methodlarla kaldırmak,
- Akrilamidin vücuttaki toksisitesini azaltmak vardır (M. Friedman & Levin, 2008).

Bizim çalışmamızda kullandığımız L-sistein maddesi Friedman & Levinin akrilamidi azaltmaya yönelik önerilerinde yer almaktadır. L-sisteinin akrilamit oluşumunu engellemek için besinlere takviye bir madde olarak konulabileceğinden de bahsetmektedir.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Çalışmamızda 11-12 haftalık 28 adet Sprague-Dawley türü sıçana akrilamit ve L-sistein verildi. Elde ettiğimiz sonuçları özetleyecek olursak:

1. 10 gün boyunca i.p. olarak verilen akrilamit (40mg/kg) sıçanların vücut ağırlığında ve testis ağırlığında istatistiksel olarak anlamlı bir düşüşe neden olurken, testis ağırlık indeksinde istatistiksel olarak anlamlı bir değişim olmamıştır.
2. Akrilamit aynı zamanda hayvanlarda sinirlilik yapmıştır ve arka bacaklarda zayıflıktan dolayı arka bacak yayvanlığına neden olmuştur. Histolojik incelemelerde de akrilamit grubunda seminifer tübüllerde çok miktarda dev hücrelere rastlanmış olup aynı zamanda tübül çapları küçülmüştür.
3. L-sistein (150 mg/kg i.p.) ve akrilamit uygulanan gruplarda vücut ağırlığında kontrol grubuna göre bir artış olsa da istatistiksel olarak anlamlı bir artış değildir. Bu sebepten L-sisteinin vücut ağırlığı ve testis ağırlığına anlamlı bir etkisi olmamıştır.
4. L-sistein ve akrilamit uygulanan gruplarda dev hücre çok daha az görülmüştür. L-sistein histolojik olarak testis dokusunu korumuştur.
5. Seminifer tübül çaplarına baktığımızda L-sistein+akrilamit ve akrilamit grubunda da seminifer tübül küçülmüştür. L-sistein seminifer tübül çapları üzerinde koruyucu bir etki yapmamıştır.
6. Serum testosteron miktarlarına bakıldığında gruplar arasında anlamlı bir fark olmasa da akrilamit grubunda testosteron miktarları azalmıştır. L-sistein + akrilamit grubunda da bu azalma söz konusu olduğundan L-sistein serum testosteron miktarında olumlu bir etki yapmamıştır.
7. Akrilamit alfa-beta tip 2-alkenlerin doymamış bileşiği sınıfında olduğundan çalışmamızda bulduğumuz sonuçlar ve yorumlar bu sınıftaki akrolein, akrilonitril, metil akrilat, metil-vinil keton, metilvinil sulfon, dehidroalanin ve bu sınıftaki diğer bileşikler için de kullanılabilir.
8. Akrilamidin azalmasında L-sistein benzeri sülfhidril içeren bileşiklerin akrilamit gibi elektrofilleri yakalamasında ve yiyeceklerde miktarının azalmasında rolleri büyüktür. Çalışmamızda L-sisteinin histolojik olarak testis dokusunda iyileşmeye neden olduğu, vücut ağırlığında istatistiksel olarak olmasa da kısmi bir artışa neden olduğu söylenebilir. Testis harici diğer organlarda da, L-sistein veya türevleri hakkında daha geniş çalışmalar yapılabilir. L-sisteinin akrilamit toksisitesi üzerindeki mekanizması daha ayrıntılı bir şekilde incelenebilir. Gerek labaratuvarında, çeşitli sanayi kollarında ve

evlerimizde (kızartma, tost, fırınlanmış besinler vb.) karşılaştığımız kanserojen, mutajen ve toksikolojik olan akrilamidin azaltılmasına katkı sağlanabilir.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Abramsson-Zetterberg, L. (2003). The dose-response relationship at very low doses of acrylamide is linear in the flow cytometer-based mouse micronucleus assay. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 535(2), 215-222. doi: 10.1016/s1383-5718(02)00322-4
- Adler, I. D., Schmid, T. E., & Baumgartner, A. (2002). Induction of aneuploidy in male mouse germ cells detected by the sperm-FISH assay: a review of the present data base. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 504(1-2), 173-182. doi: 10.1016/S0027-5107(02)00090-8
- Ahmed, E. A., Omar, H. M., elghaffar, S. K. A., Ragb, S. M. M., & Nasser, A. Y. (2011). The antioxidant activity of Vitamin C, DPPD and l-cysteine against Cisplatin-induced testicular oxidative damage in rats. *Food and Chemical Toxicology*, 49(5), 1115-1121. doi: 10.1016/j.fct.2011.02.002
- Alturfan, A. A., Tozan-Beceran, A., Şehirli, A., Demiralp, E., Şener, G., & Omurtag, G. (2012a). Resveratrol ameliorates oxidative DNA damage and protects against acrylamide-induced oxidative stress in rats. *Molecular Biology Reports*, 39(4), 4589-4596. doi: 10.1007/s11033-011-1249-5
- Alturfan, E. I., Beceran, A., Şehirli, A. O., & Demiralp, Z. E. (2012b). Protective effect of N-acetyl-L-cysteine against acrylamide-induced oxidative stress in rats. *Turkish journal of veterinary and animal sciences*, 36(4), 438-445. doi: 10.3906/vet-1105-29
- Arıncı, I. D., & Elhan, A. (1999). *Anatomi*. Ankara: Güneş Kitabevi.
- Aruoma, O. I., Halliwell, B., Hoey, B. M., & Butler, J. (1989). The antioxidant action of N-acetylcysteine: its reaction with hydrogen peroxide, hydroxyl radical, superoxide, and hypochlorous acid. *Free Radical Biology & Medicine*, 6(6), 593-597.
- Baardseth, P., Blom, H., Skrede, G., Mydland, L. T., Skrede, A., & Slinde, E. (2006). Lactic Acid Fermentation Reduces Acrylamide Formation and Other Maillard Reactions in French Fries. *Journal of Food Science*, 71(1), C28-C33. doi: 10.1111/j.1365-2621.2006.tb12384.x
- Bergmark, E., Calleman, C. J., He, F. S., & Costa, L. G. (1993). Determination of Hemoglobin Adducts in Humans Occupationally Exposed to Acrylamide. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 120(1), 45-54. doi: 10.1006/taap.1993.1085
- Borouhaki, M. T., Nikkhah, E., Kazemi, A., Oskoei, M., & Raters, M. (2010). Determination of acrylamide level in popular Iranian brands of potato and corn products. *Food and Chemical Toxicology*, 48(10), 2581-2584. doi: 10.1016/j.fct.2010.06.011

Burukoglu, D., & Baycu, C. (2008). Protective effects of zinc on testes of cadmium-treated rats. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 81(6), 521-524. doi: 10.1007/s00128-007-9211-x

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

- Calleman, C. J., Bergmark, E., Stern, L. G., & Costa, L. G. (1993). A nonlinear dosimetric model for hemoglobin adduct formation by the neurotoxic agent acrylamide and its genotoxic metabolite glycidamide. *Environmental Health Perspectives*, 99, 221-223.
- Camacho, L., Latendresse, J. R., Muskhelishvili, L., Patton, R., Bowyer, J. F., Thomas, M., & Doerge, D. R. (2012). Effects of acrylamide exposure on serum hormones, gene expression, cell proliferation, and histopathology in male reproductive tissues of Fischer 344 rats. *Toxicology Letters*, 211(2), 135-143. doi: 10.1016/j.toxlet.2012.03.007
- Capuano, E., & Fogliano, V. (2011). Acrylamide and 5-hydroxymethylfurfural (HMF): A review on metabolism, toxicity, occurrence in food and mitigation strategies. *LWT - Food Science and Technology*, 44(4), 793-810. doi: 10.1016/j.lwt.2010.11.002
- Carere, A. (2006). Genotoxicity and carcinogenicity of acrylamide: a critical review. *Ann Ist Super Sanita*, 42(2), 144-155.
- Ciftci, H., Verit, A., Savas, M., Yeni, E., & Erel, O. (2009). Effects of N-acetylcysteine on Semen Parameters and Oxidative/Antioxidant Status. *Urology*, 74(1), 73-76. doi: 10.1016/j.urology.2009.02.034
- Claeys, W. L., De Vleeschouwer, K., & Hendrickx, M. E. (2005). Effect of amino acids on acrylamide formation and elimination kinetics. *Biotechnology Progress*, 21(5), 1525-1530. doi: 10.1021/bp050194s
- Claus, A., Carle, R., & Schieber, A. (2008). Acrylamide in cereal products: A review. *Journal of Cereal Science*, 47(2), 118-133. doi: 10.1016/j.jcs.2007.06.016
- Cocco, T., Sgobbo, P., Clemente, M., Lopriore, B., Grattagliano, I., Di Paola, M., & Villani, G. (2005). Tissue-specific changes of mitochondrial functions in aged rats: effect of a long-term dietary treatment with N-acetylcysteine. *Free Radical Biology & Medicine* 38(6), 796-805. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2004.11.034
- Costa, L. G. (1996). Biomarker research in neurotoxicology: the role of mechanistic studies to bridge the gap between the laboratory and epidemiological investigations. *Environmental Health Perspectives*, 104(Suppl 1), 55-67.
- Creasy, D. M., & Chapin, R. M. (2013). *Systems Toxicologic Pathology : Male Reproductive System* (Third ed.).
- Dabrio, M., Sejerøeolsen, B., Musser, S., Emteborg, H., Ulberth, F., & Emons, H. (2008). Production of a certified reference material for the acrylamide content in toasted bread. *Food Chemistry*, 110(2), 504-511. doi: 10.1016/j.foodchem.2008.02.034
- Dearfield, K. L., Douglas, G. R., Ehling, U. H., Moore, M. M., Sega, G. A., & Brusick, D. J. (1995). Acrylamide: a review of its genotoxicity and

an assessment of heritable genetic risk. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 330(1-2), 71-99. doi: 10.1016/0027-5107(95)00037-J

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

- Doğan, İ. S., & Meral, R. (2006). *Gıdalarda akrilamid ve önemi*. Paper presented at the Türkiye 9. Gıda Kongresi, Türkiye : Bolu.
- Dybing, E., & Sanner, T. (2003). Risk assessment of acrylamide in foods. *Toxicological Sciences*, 75(1), 7-15. doi: 10.1093/toxsci/kfg165
- ECHC. (2009). Environment Canada and Health Canada. Screening Assessment for the Challenge 2-Propenamide Acrylamide.
- Eriksson, S. (2005). *Acrylamide in food products Identification, formation and analytical methodology*. (Doctoral Thesis), Stockholm University, Akademityck.
- Fahri, D. (1999). *Anatomi Atlası ve ders kitabı* (5 ed.). İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi.
- Farombi, E. O., Ugwuezunmba, M. C., Ezenwadu, T. T., Oyeyemi, M. O., & Ekor, M. (2008). Tetracycline-induced reproductive toxicity in male rats: effects of vitamin C and N-acetylcysteine. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 60(1), 77-85. doi: 10.1016/j.etp.2008.02.002
- Figen, G. G. (2003). *Sistemik Anatomi* (1 ed.). İzmir: İzmir Güven Kitabevi.
- Friedman, M. (1994). Improvement in the safety of foods by sulfhydryl-containing amino acids and peptides. A review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 42(1), 3-20. doi: 10.1021/jf00037a002
- Friedman, M. (1996). Food Browning and Its Prevention: An Overview. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44(3), 631-653. doi: 10.1021/jf950394r
- Friedman, M. (2003). Chemistry, Biochemistry, and Safety of Acrylamide. A Review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(16), 4504-4526. doi: 10.1021/jf030204+
- Friedman, M., & Levin, C. E. (2008). Review of methods for the reduction of dietary content and toxicity of acrylamide. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(15), 6113-6140. doi: 10.1021/jf0730486
- Friedman, M. A., Dulak, L. H., & Stedham, M. A. (1995). A lifetime oncogenicity study in rats with acrylamide. *Fundam Appl Toxicol*, 27(1), 95-105.
- Galeša, K., Bren, U., Kranjc, A., & Mavri, J. (2008). Carcinogenicity of Acrylamide: A Computational Study. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(18), 8720-8727. doi: 10.1021/jf800965y
- Gartner, L. P., & Hiatt, J. L. (2007). *Color Textbook of Histology* (third ed.). Philadelphia: Saunders Elsevier.
- Gassner, P., & Adler, I.-D. (1996). Induction of hypoploidy and cell cycle delay by acrylamide in somatic and germinal cells of male mice.

Mutation Research/Genetic Toxicology, 367(4), 195-202. doi: 10.1016/S0165-1218(96)90077-4

Gerrard, J. A. (2006). The Maillard reaction in food: Progress made, challenges ahead—Conference Report from the Eighth International

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

Symposium on the Maillard Reaction. *Trends in Food Science & Technology*, 17(6), 324-330. doi: 10.1016/j.tifs.2005.11.011

Govaert, Y., Ariseto, A., Van Loco, J., Scheers, E., Fraselle, S., Weverbergh, E., . . . Goeyens, L. (2006). Optimisation of a liquid chromatography–tandem mass spectrometric method for the determination of acrylamide in foods. *Analytica Chimica Acta*, 556(2), 275-280. doi: 10.1016/j.aca.2005.09.045

Granby, K., & Fagt, S. (2004). Analysis of acrylamide in coffee and dietary exposure to acrylamide from coffee. *Analytica Chimica Acta*, 520(1-2), 177-182. doi: 10.1016/j.aca.2004.05.064

Gray, H. (2001). Gray's Anatomy of Human Body.

Gutierrez-Espeleta, G. A., Hughes, L. A., Piegorsch, W. W., Shelby, M. D., & Generoso, W. M. (1992). Acrylamide: dermal exposure produces genetic damage in male mouse germ cells. *Fundam Appl Toxicol*, 18(2), 189-192.

Habert, R., Lejeune, H., & Saez, J. M. (2001). Origin, differentiation and regulation of fetal and adult Leydig cells. *Mol Cell Endocrinol*, 179(1-2), 47-74.

Hadley, W. M. (1975). The chemistry and biochemistry of the sulfhydryl groups in amino acids, peptides and proteins. By MENDEL FRIEDMAN. Pergamon Press, Elmsford, NY 10523, 1973. vii + 485 pp. 18 × 26 cm. Price \$22.50. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 64(4), 715-715. doi: 10.1002/jps.2600640439

Halford, N. G., Curtis, T. Y., Muttucumar, N., Postles, J., & Mottram, D. S. (2011). Sugars in crop plants. *Annals of Applied Biology*, 158(1), 1-25. doi: 10.1111/j.1744-7348.2010.00443.x

He, F. S., Zhang, S. L., Wang, H. L., Li, G., Zhang, Z. M., Li, F. L., . . . Hu, F. R. (1989). Neurological and electroneuromyographic assessment of the adverse effects of acrylamide on occupationally exposed workers. *Scandinavian Journal of Work, Environment & Health*, 15(2), 125-129. doi: 10.5271/sjweh.1878

Hecht, N. B. (1998). Molecular mechanisms of male germ cell differentiation. *BioEssays*, 20(7), 555-561. doi: 10.1002/(SICI)1521-1878(199807)20:7<555::AID-BIES6>3.0.CO;2-J

Hidalgo, F. J., Delgado, R. M., & Zamora, R. (2010). Role of mercaptans on acrylamide elimination. *Food Chemistry*, 122(3), 596-601. doi: 10.1016/j.foodchem.2010.03.016

- HSDB. (2010). Hazardous Substances Data Bank-Acrylamide. Retrieved from:<http://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/search/a?dbs+hsdb:@term+@DOCNO+191>
- IARC. (1994). *International Agency for Research on Cancer. Monographs on the evaluation of the carcinogenic risk to humans.*: International Agency for Research on Cancer

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

- IPCS. (1985). Acrylamide Environmental Health Criteria 49 from <http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc49.htm>
- Jiao, J., Zhang, Y., Ren, Y., Wu, X., & Zhang, Y. (2005). Development of a quantitative method for determination of acrylamide in infant powdered milk and baby foods in jars using isotope dilution liquid chromatography/electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1099(1-2), 198-202. doi: 10.1016/j.chroma.2005.10.061
- JIFSAN/NCFST. (2004). Mechanisms of formation of acrylamide in food summary report-Acrylamide in Food Workshop from <http://jifsan.umd.edu/events/view/65>
- Johnson, K. A., Gorzinski, S. J., Bodner, K. M., Campbell, R. A., Wolf, C. H., Friedman, M. A., & Mast, R. W. (1986). Chronic toxicity and oncogenicity study on acrylamide incorporated in the drinking water of Fischer 344 rats. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 85(2), 154-168. doi: 10.1016/0041-008X(86)90109-2
- Johnson, M. H. (2013). *Essential Reproduction* (seventh ed.). Cambridge: Wiley-Blackwell.
- Josso, N., di Clemente, N., & Gouedard, L. (2001). Anti-Mullerian hormone and its receptors. *Mol Cell Endocrinol*, 179(1-2), 25-32.
- Junqueira, L. C., & Carneiro, J. (2009). *Temel Histoloji-Text & Atlas* (eleventh ed.). İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi.
- Katen, A. L., & Roman, S. D. (2014). The genetic consequences of paternal acrylamide exposure and potential for amelioration. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*(0). doi: 10.1016/j.mrfmmm.2015.04.008
- Keramat, J., LeBail, A., Prost, C., & Soltanizadeh, N. (2010). Acrylamide in Foods: Chemistry and Analysis. A Review. *Food and Bioprocess Technology*, 4(3), 340-363. doi: 10.1007/s11947-010-0470-x
- Kermani-Alghoraishi, M., Anvari, M., Talebi, A. R., Amini-Rad, O., Ghahramani, R., & Miresmaili, S. M. (2010). The effects of acrylamide on sperm parameters and membrane integrity of epididymal spermatozoa in mice. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*, 153(1), 52-55. doi: 10.1016/j.ejogrb.2010.07.008
- Kierszenbaum, A. L. (2006). *Histoloji ve Hücre Biyolojisi-Patolojiye Giriş* (R. Demir Ed.). Ankara: Palme Yayıncılık.
- Kim, C. T., Hwang, E.-S., & Lee, H. J. (2005). Reducing Acrylamide in Fried Snack Products by Adding Amino Acids. *Journal of Food*

Science, 70(5), C354-C358. doi: 10.1111/j.1365-2621.2005.tb09966.x

Kirman, C. R., Gargas, M. L., Deskin, R., Tonner-Navarro, L., & Andersen, M. E. (2003). A physiologically based pharmacokinetic model for acrylamide and its metabolite, glycidamide, in the rat. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 66(3), 253-274. doi: 10.1080/15287390306368

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

Kumamoto, M., Sonda, T., Nagayama, K., & Tabata, M. (2001). Effects of pH and metal ions on antioxidative activities of catechins. *Biosci Biotechnol Biochem*, 65(1), 126-132. doi: 10.1271/bbb.65.126

LifeExtension. (2003). L-Cystein Overview. Retrieved from: <http://www.lef.org/>

Ma, Y., Shi, J., Zheng, M., Liu, J., Tian, S., He, X., . . . Zhu, J. (2011). Toxicological effects of acrylamide on the reproductive system of weaning male rats. *Toxicol Ind Health*, 27(7), 617-627. doi: 10.1177/0748233710394235

MicrobialWorld. (2012). The primary structure of proteins is the amino acid sequence. Retrieved from: http://www.microbiologytext.com/index.php?module=Book&func=displayarticle&art_id=661

Molak, V. (1991). *NIOH and NIOSH Basis for an Occupational Health Standard. Acrylamide A Review of the Literature.*, U.S. Government Printing Office.

Moore, K. L., & Persaud, T. V. N. (2009). *Klinik Yönleriyle İnsan Embriyolojisi* (H. Dalçık & M. Yıldırım Eds. second ed.). İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri.

Mottram, D. S., Wedzicha, B. L., & Dodson, A. T. (2002). Acrylamide is formed in the Maillard reaction. *Nature*, 419(6906), 448-449. doi: 10.1038/419448a

Mucci, L. A., Dickman, P. W., Steineck, G., Adami, H. O., & Augustsson, K. (2003). Dietary acrylamide and cancer of the large bowel, kidney, and bladder: absence of an association in a population-based study in Sweden. *British Journal of Cancer*, 88(1), 84-89. doi: 10.1038/sj.bjc.6600726

Mustafa, H. N. (2012). Effect of acrylamide on testis of albino rats. Ultrastructure and DNA cytometry study. *Saudi Medical Journal*, 33(7), 722-731.

Netter, F. (2010). *Atlas of Human Anatomy* (fifth ed.): Saunders Elsevier.

Nixon, B. J., Katen, A. L., Stanger, S. J., Schjenken, J. E., Nixon, B., & Roman, S. D. (2014). Mouse spermatocytes express CYP2E1 and respond to acrylamide exposure. *PLoS One*, 9(5), e94904. doi: 10.1371/journal.pone.0094904

NTP-CERHR. (2005). The National Toxicology Program and Center for the Evaluation of Risks to Human Reproduction. NTP-CERHR Monograph

on the Potential Human Reproductive and Developmental Effects of Acrylamide.

Ovalle, W. K., & Nahirney, P. C. (2009). *Netter Temel Histoloji* (S. Müftüoğlu, F. Kaymaz, & P. Atilla Eds.). Ankara: Güneş Tıp Kitabevleri.

Özkaynak, E., & Ova, G. (2006). *Akrilamid - Gıdalarda oluşan önemli bir kontaminant, Türkiye 9. Gıda Kongresi 24-26 Mayıs 2006, Bolu*. Paper presented at the Türkiye 9. Gıda Kongresi, Türkiye.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

Öztürk, F. (2013). Genel İnsan Embriyolojisi Ders Notları (pp. 1-6).

Parodi, P. W. (2007). A role for milk proteins and their peptides in cancer prevention. *Current Pharmaceutical Design*, 13(8), 813-828.

Parzefall, W. (2008). Minireview on the toxicity of dietary acrylamide. *Food and Chemical Toxicology*, 46(4), 1360-1364. doi: 10.1016/j.fct.2007.08.027

Paulsson, B., Granath, F., Grawé, J., Ehrenberg, L., & Törnqvist, M. (2001). The multiplicative model for cancer risk assessment: applicability to acrylamide. *Carcinogenesis*, 22(5), 817-819. doi: 10.1093/carcin/22.5.817

Paulsson, B., Grawé, J., & Törnqvist, M. (2002). Hemoglobin adducts and micronucleus frequencies in mouse and rat after acrylamide or N-methylolacrylamide treatment. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 516(1-2), 101-111. doi: 10.1016/S1383-5718(02)00027-X

Rajeh, N., Al Saggaf, S., Ayuob, N., & ElAssouli, S. (2011). Characterization of Acrylamide Mediated Testicular Toxicity in Rat: Light and Electron Microscopic Study. *Kuwait Medical Journal*, 43(3), 196-205.

Ravi, R., Manohar, R. S., & Rao, P. H. (2000). Influence of additives on the rheological characteristics and baking quality of wheat flours. *European Food Research and Technology*, 210(3), 202-208. doi: 10.1007/PL00005512

Rayburn, J. R., & Friedman, M. (2010). L-cysteine, N-acetyl-L-cysteine, and glutathione protect *Xenopus laevis* embryos against acrylamide-induced malformations and mortality in the frog embryo teratogenesis assay. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 58(20), 11172-11178. doi: 10.1021/jf1023998

Reddy, P. S., Rani, G. P., Sainath, S. B., Meena, R., & Supriya, C. (2011). Protective effects of N-acetylcysteine against arsenic-induced oxidative stress and reprotoxicity in male mice. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 25(4), 247-253. doi: 10.1016/j.jtemb.2011.08.145

Ren, Y., Zhang, Y., Jiao, J., Cai, Z., & Zhang, Y. (2006). Sensitive isotope dilution liquid chromatography/electrospray ionization tandem mass spectrometry method for the determination of acrylamide in chocolate. *Food Additives & Contaminants*, 23(3), 228-236. doi: 10.1080/02652030500415645

- Rice, J. M. (2005). The carcinogenicity of acrylamide. *Mutation Research* 580(1-2), 3-20. doi: 10.1016/j.mrgentox.2004.09.008
- Richard, E. J., & Lopez, K. H. (2013). Human Reproductive Biology (fourth ed.). Colorado: Elsevier.
- Rommens, C. M., Yan, H., Swords, K., Richael, C., & Ye, J. (2008). Low-acrylamide French fries and potato chips. *Plant Biotechnol Journal*, 6(8), 843-853. doi: 10.1111/j.1467-7652.2008.00363.x

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

- Ross, M. H., & Pawlina, W. (2011). Histology- a text and atlas with correlated cell and molecular biology (seventh ed.). Philadelphia: Lippincott Williams&Wilkins.
- Rotter, V., Schwartz, D., Almon, E., Goldfinger, N., Kapon, A., Meshorer, A., . . . Levine, A. J. (1993). Mice with reduced levels of p53 protein exhibit the testicular giant-cell degenerative syndrome. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 90(19), 9075-9079.
- Ruden, C. (2004). Acrylamide and cancer risk--expert risk assessments and the public debate. *Food and Chemical Toxicology*, 42(3), 335-349. doi: 10.1016/j.fct.2003.10.017
- Sadler, T. W. (2005). *Langman Medikal Embriyoloji* (A. C. Basaklar Ed. 11 ed.). Ankara: Palme Yayıncılık.
- Sahinturk, V., Guclu, C., & Baycu, C. (2007). Protective effects of vitamin E on ethane dimethane sulfonate-induced testicular toxicity in rats. *Asian Journal of Andrology*, 9(1), 117-124. doi: 10.1111/j.1745-7262.2007.00229.x
- Sakamoto, J., & Hashimoto, K. (1986). Reproductive toxicity of acrylamide and related compounds in mice — effects on fertility and sperm morphology. *Archives of Toxicology*, 59(4), 201-205. doi: 10.1007/BF00290538
- Sakamoto, J., Kurosaka, Y., & Hashimoto, K. (1988). Histological changes of acrylamide-induced testicular lesions in mice. *Experimental and Molecular Pathology*, 48(3), 324-334.
- ScienceDaily. (2009). Targeting oxidized cysteine through diet could reduce inflammation and lower disease risk. Retrieved from: <http://shared.web.emory.edu/whsc/news/releases/2009/03/targeting-oxidized-cysteine.html>
- Sega, G. A., Generoso, E. E., Brimer, P. A., & Malling, H. V. (1990). Acrylamide exposure induces a delayed unscheduled dna synthesis in germ cells of male mice that is correlated with the temporal pattern of adduct formation in testis DNA. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 16(3), 137-142. doi: 10.1002/em.2850160302
- Segerback, D., Calleman, C. J., Schroeder, J. L., Costa, L. G., & Faustman, E. M. (1995). Formation of N-7-(2-carbamoyl-2-hydroxyethyl)guanine in DNA of the mouse and the rat following

- intraperitoneal administration of [14C]acrylamide. *Carcinogenesis*, 16(5), 1161-1165.
- Sen, E., Tunali, Y., & Erkan, M. (2015). Testicular development of male mice offsprings exposed to acrylamide and alcohol during the gestation and lactation period. *Hum Exp Toxicol*, 34(4), 401-414. doi: 10.1177/0960327114542883
- Sharp, D. (2003). Going public on acrylamide. *Journal of Health Communication*, 8(5), 433-434. doi: 10.1080/713852115

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

- Shelby, M. D., Cain, K. T., Cornett, C. V., & Generoso, W. M. (1987). Acrylamide: Induction of heritable translocations in male mice. *Environmental Mutagenesis*, 9(4), 363-368. doi: 10.1002/em.2860090403
- Shelby, M. D., Cain, K. T., Hughes, L. A., Braden, P. W., & Generoso, W. M. (1986). Dominant lethal effects of acrylamide in male mice. *Mutation Research Letters*, 173(1), 35-40. doi: 10.1016/0165-7992(86)90008-4
- Singh, V. (2014). *Textbook of Anatomy Abdomen and Lower Limb: Volume II* (second ed.). India: Elsevier.
- Smith, E. A., & Oehme, F. W. (1991). Acrylamide and polyacrylamide: a review of production, use, environmental fate and neurotoxicity. *Reviews on Environmental Health*, 9(4), 215-228.
- Snell, R. S. (1998). *Klinik Anatomi* (M. Yıldırım Ed. 5 ed.). İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi.
- Solomon, J. J., Fedyk, J., Mukai, F., & Segal, A. (1985). Direct Alkylation of 2'-Deoxynucleosides and DNA following in Vitro Reaction with Acrylamide. *Cancer Research*, 45(8), 3465-3470.
- Stadler, R. H., Blank, I., Varga, N., Robert, F., Hau, J., Guy, P. A., . . . Riediker, S. (2002). Food chemistry: Acrylamide from Maillard reaction products. *Nature*, 419(6906), 449-450.
- Stevens, K. L., Wilson, R. E., & Friedman, M. (1995). Inactivation of a Tetrachloroimide Mutagen from Simulated Processing Water. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43(9), 2424-2427. doi: 10.1021/jf00057a020
- Sumner, S. C. J., MacNeela, J. P., & Fennell, T. R. (1992). Characterization and quantitation of urinary metabolites of [1,2,3-13C]acrylamide in rats and mice using carbon-13 nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Chemical Research in Toxicology*, 5(1), 81-89. doi: 10.1021/tx00025a014
- Svechnikov, K., Landreh, L., Weisser, J., Izzo, G., Colon, E., Svechnikova, I., & Soder, O. (2010). Origin, development and regulation of human Leydig cells. *Hormone Research in Paediatrics*, 73(2), 93-101. doi: 10.1159/000277141
- Tamer, C., & Karaman, B. (2006). *Tamer C, Karaman B. 2006. Gidalarda akrilamid oluşumu ve insan sagligi üzerine etkileri*. Paper presented at the Türkiye 8. Gıda Kongresi, Türkiye.

- Tareke, E., Rydberg, P., Karlsson, P., Eriksson, S., & Tornqvist, M. (2000). Acrylamide: a cooking carcinogen? *Chemical Research in Toxicology* 13(6), 517-522.
- Tareke, E., Rydberg, P., Karlsson, P., Eriksson, S., & Törnqvist, M. (2002). Analysis of Acrylamide, a Carcinogen Formed in Heated Foodstuffs. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(17), 4998-5006. doi: 10.1021/jf020302f
- Tekelioğlu, M. e. (1999). *Sabotta Histoloji-Renkli Sitoloji, Histoloji ve Mikroskopik İnsan Anatomi Atlası* (5 ed.). İstanbul: Beta Basım.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

- Thompson, M. W., McInnes, R. R., & Willard, H. E. (1991). Thompson & Thompson Genetics in Medicine. *Hormone Research*, 30(144).
- Tritscher, A. M. (2004). Human health risk assessment of processing-related compounds in food. *Toxicology Letters*, 149(1-3), 177-186. doi: 10.1016/j.toxlet.2003.12.059
- Tsutsumiuchi, K., Hibino, M., Kambe, M., Oishi, K., Okada, M., Miwa, J., & Taniguchi, H. (2004). Application of ion-trap LC/MS/MS for determination of acrylamide in processed foods. *Shokuhin Eiseigaku Zasshi*, 45(2), 95-99.
- Tyl, R. W., & Friedman, M. A. (2003). Effects of acrylamide on rodent reproductive performance. *Reproductive Toxicology*, 17(1), 1-13. doi: 10.1016/S0890-6238(02)00078-3
- Tyl, R. W., Marr, M. C., Myers, C. B., Ross, W. P., & Friedman, M. A. (2000). Relationship between acrylamide reproductive and neurotoxicity in male rats. *Reproductive Toxicology*, 14(2), 147-157. doi: 10.1016/S0890-6238(00)00066-6
- Wakaizumi, M., Yamamoto, H., Fujimoto, N., & Ozeki, K. (2009). Acrylamide degradation by filamentous fungi used in food and beverage industries. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 108(5), 391-393. doi: 10.1016/j.jbiosc.2009.05.004
- Wang, H., Huang, P., Lie, T., Li, J., Hutz, R. J., Li, K., & Shi, F. (2010). Reproductive toxicity of acrylamide-treated male rats. *Reproductive Toxicology*, 29(2), 225-230. doi: 10.1016/j.reprotox.2009.11.002
- Wensing, C. J. G. (1988). The Embryology of Testicular Descent. *Hormone Research in Paediatrics*, 30(4-5), 144-152.
- WHO. (2013). World Health Organization. Model List of Essential Medicines -Acrylamide.
- Yalcin, B., Komesli, G. H., Ozgok, Y., & Ozan, H. (2005). Vascular anatomy of normal and undescended testes: surgical assessment of anastomotic channels between testicular and deferential arteries. *Urology*, 66(4), 854-857. doi: 10.1016/j.urology.2005.04.038
- Yang, H. J., Lee, S. H., Jin, Y., Choi, J. H., Han, C. H., & Lee, M. H. (2005b). Genotoxicity and toxicological effects of acrylamide on reproductive system in male rats. *Journal of Veterinary Science*, 6(2), 103-109.
- Yang, H. J., Lee, S. H., Jin, Y., Choi, J. H., Han, D. U., Chae, C., . . . Han, C. H. (2005a). Toxicological effects of acrylamide on rat testicular

- gene expression profile. *Reproductive Toxicology*, 19(4), 527-534. doi: 10.1016/j.reprotox.2004.10.006
- Yang, L.-J., Wan, R., Shen, J.-Q., Shen, J., & Wang, X.-P. (2013). Effect of L-cysteine on remote organ injury in rats with severe acute pancreatitis induced by bile-pancreatic duct obstruction. *Hepatobiliary & Pancreatic Diseases International*, 12(4), 428-435. doi: 10.1016/s1499-3872(13)60067-3
- Yassa, H. A., George, S. M., Refaiy Ael, R., & Moneim, E. M. (2014). Camellia sinensis (green tea) extract attenuate acrylamide induced **KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)** testicular damage in albino rats. *Environmental Toxicology*, 29(10), 1155-1161. doi: 10.1002/tox.21846
- Zhang, Y., Dong, Y., Ren, Y., & Zhang, Y. (2006). Rapid determination of acrylamide contaminant in conventional fried foods by gas chromatography with electron capture detector. *Journal of Chromatography A* 1116(1-2), 209-216. doi: 10.1016/j.chroma.2006.03.042
- Zhang, Y., & Zhang, Y. (2007). Formation and reduction of acrylamide in Maillard reaction: a review based on the current state of knowledge. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 47(5), 521-542. doi: 10.1080/10408390600920070
- Zhou, Q.-L., Zhang, Z.-H., & Jing, Z.-L. (2007). Acrylamide. *Acta Crystallographica Section E Structure Reports Online*, 63(6), o3039-o3039. doi: 10.1107/s1600536807024816
- Zyzak, D. V., Sanders, R. A., Stojanovic, M., Tallmadge, D. H., Eberhart, B. L., Ewald, D. K., . . . Villagran, M. D. (2003). Acrylamide Formation Mechanism in Heated Foods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(16), 4782-4787. doi: 10.1021/jf034180i

ÖZGEÇMİŞ

Bireysel Bilgiler:

Adı-Soyadı : Sedat KAÇAR

Doğum tarihi ve yeri : 17.01.1984 - Şişli

Uyruğu : T.C.

Medeni durumu : Evli

İletişim adresleri : ESOGÜ Tıp Fakültesi - Histoloji ve Embriyoloji ABD

Eğitim Durumu:

1990-1996 Önder İlköğretim Okulu

1996-1998 Gültepe İlköğretim Okulu

1998-2002 Sarıyer V.K.V. Lisesi (Y.D.A.)

2002-2003 ODTÜ yabancı dil hazırlık

2003-2010 Orta Doğu Teknik Üniversitesi- Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü

Diller: Türkçe (Anadil), İngilizce (ileri derecede), Almanca (başlangıç), İspanyolca (başlangıç).

Mesleki Deneyim:

Hacettepe Eczacılık Fakültesi Laboratuvarı (2008)

Odtü Moleküler Biyoloji ve Genetik Laboratuvarı (2008-2010)

İzmir Adli Tıp Kurumu (2010-2013)

ESOGÜ Tıp-Histoloji ve Embriyoloji ABD (2013-)

Katıldığı Kongreler:

5-8 Temmuz.2012 - 22. ULUSLARARASI ADLİ TIP AKADEMİSİ
KONGRESİ

17-20. Nisan.2014 - CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ SAĞLIK BİLİMLERİ
ENSTİTÜSÜ 2. ULUSAL SAĞLIK BİLİMLERİ 2. LİSANSÜSTÜ ÖĞRENCİ
KONGRESİ KÖK HÜCRE ÖĞRENCİ SEMPOZYUMU

Poster ve bildiriler:

Yılmaz, T.; Kacar, S.; Kocabiyik, S, Altered gene expression patterns
of Thermoplasma volcanium 20S proteasome-VAT complex proteins in
stress response.": FEBS JOURNAL 22nd IUBMB Congress/37th FEBS
Congress Seville ", 279, (2012), p.499-500.

Koyuncu G., Keser İ., Cun E., Kaçar S., Özekin K., Keskin B.
Importance of X-STR in paternity test: Case Report: 22. Uluslararası Adli
Tıp Kongresi.