



**T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZI ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**ERİŞKİN ERKEK SIÇANLARDA
KARBON TETRAKLORÜR İLE OLUŞTURULAN
TESTİS HASARI ÜZERİNE KUERSETİNİN ETKİSİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HATİCE EMEK

DANIŞMAN: YRD. DOÇ. DR. DİLEK BURUKOĞLU DÖNMEZ

2014



**T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZI ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**ERİŞKİN ERKEK SIÇANLARDA KARBON
TETRAKLORÜR İLE OLUŞTURULAN TESTİS HASARI
ÜZERİNE KUERSETİNİN ETKİSİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HATİCE EMEK

DANIŞMAN: YRD. DOÇ. DR. DİLEK BURUKOĞLU DÖNMEZ

KABUL VE ONAY SAYFASI

Hatice EMEK'in Yüksek Lisans Tezi olarak hazırladığı "Erişkin Erkek Sığırcılarda Karbon Tetraklorür İle Oluşturulan Testis Hasarı Üzerine Kuersetinin Etkisi" başlıklı bu çalışma Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddesi uyarınca değerlendirilerek "**KABUL**" edilmiştir.

Tarih:25.12.2014

Üye : Prof. Dr. Cengiz BAYÇU

Üye : Prof. Dr. Varol ŞAHİNTÜRK

Üye : Doç. Dr. Hakan ŞENTÜRK

Üye : Yrd. Doç. Dr. Dilek BURUKOĞLU DÖNMEZ

Üye : Yrd. Doç. Dr. Hakan AY

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 30/12/2014 tarih ve 1028/4811 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Prof Dr. Kazım ÖZDAMAR

K. Özdamar
Enstitü Müdürü

ÖZET

Erişkin erkek sıçanlarda CCl_4 ile oluşturulan testis hasarı üzerine kuersetinin etkisi.

Karbon tetraklorür (CCl_4), endüstride soğutucu floroklorokarbonların üretiminde kullanılan organik bir bileşiktir. CCl_4 testiküler hücrelere hasar vererek erkek üreme fonksiyonlarını olumsuz yönde etkiler. Kuersetin, antioksidan özellikleri iyi bilinen bir flavonoiddir. Bu çalışmada CCl_4 uygulanmış erkek sıçanların testisleri üzerinde CCl_4 'ün oluşturduğu hasarda kuersetinin etkisini incelemeyi amaçladık.

Bu çalışmada toplam 28 adet erişkin Spraque-Dawley türü erkek sıçan kullanıldı. Deney hayvanları; Kontrol grubu, CCl_4 grubu, kuersetin, CCl_4 + kuersetin grubu olmak üzere toplam 4 gruba ayrıldı. Bu deney hayvanlarından; kontrol grubuna 7 gün boyunca günde bir kez belirlenen dozda zeytinyağı, CCl_4 grubuna 7 gün boyunca günde bir 0.5 ml/kg CCl_4 , kuersetin grubuna 7 gün boyunca günde bir tek dozda 20 mg/kg kuersetin, CCl_4 + kuersetin grubuna ise 7 gün boyunca günde bir kez 0.5 ml/kg CCl_4 ve 7 gün boyunca günde bir 20 mg/kg kuersetin intraperitoneal yolla uygulandı. Deney hayvanları deney süresi sonunda anestezik madde ile uyutuldu ve testis dokusu örnekleri Bouin solüsyonu içerisine alındı. Örnekler rutin histolojik işlemlerin ardından bloklandı. Her bir bloktan 3 µm kesit alınarak Hematoksilen-Eozin ve Periyodik Asit-Schiff + Hematoksilen boylarıyla boyandı ve mikroskopik incelemeleri yapıldı.

Çalışma sonucunda elde edilen bulgulara göre, kontrol grubundaki sıçanların testislerinde normal histolojik yapı, CCl_4 uygulanmış sıçanların testislerinde yoğun spermatogenetik hücre hasarı, CCl_4 + kuersetin verilen grupta ise azalmış hücre hasarı gözlemlendi.

Sonuçta, CCl_4 'ün erkek sıçanların testisleri üzerinde toksisiteye yol açtığı, kuersetinin ise CCl_4 'ün testislerde oluşturduğu bu hasarı azalttığı görüldü.

Anahtar Sözcükler: Karbon tetraklorür, Kuersetin, Sıçan, Testis

SUMMARY

Effect of quercetin on CCl₄ induced testicular injury in adult male rats.

Carbon tetrachloride (CCl₄), the industry refrigerant is an organic compound used in the production of chlorofluorocarbon. Damage to testicular cells by CCl₄ adversely affect male reproductive functions. Quercetin is a flavonoid antioxidant properties are well known. In this study, the testes of male rats on applied CCl₄ damage caused by CCl₄ aimed to investigate the effect of quercetin.

In this study, a total of 28 adult male Sprague Dawley rats were used. Laboratory animals; Control group, CCl₄ group, quercetin group, including CCl₄ + quercetin group was divided into 4 groups. This experimental animals; control group for 7 days, once daily determined dose of olive oil, CCl₄ group daily for 7 days of a 0.5 ml/kg CCl₄, quercetin group daily for 7 days in a single dose of 20 mg/kg of quercetin, CCl₄ + quercetin group for 7 days once a day 0.5 ml/kg daily for 7 days CCl₄ 20 mg/kg were injected with quercetin. Experimental animals were anesthetized with anesthetic agent at the end of test period, and testis tissue samples taken up in Bouin solution. After the staining process was blocked. 3 mm sections taken from each block hematoxylin and eosin and periodic acid-Schiff + were stained with hematoxylin and microscopic examinations were performed.

According to the findings obtained from the study, the normal histological structure of the testis of rats in the control group, intense spermatogenic cells in the testes of rats by CCl₄ injury, CCl₄ + quercetin decreased cell damage was observed in the group.

As a result, the testes of male rats on CCl₄-induced toxicity, quercetin is formed in the testes of CCl₄ was found to reduce this damage.

Key words: Carbon tetrachlorid, Quercetin, Rat, Testes

İÇİNDEKİLER

İÇ KAPAK SAYFASI	i
KABUL ve ONAY SAYFASI	ii
ÖZET	iii
SUMMARY	iv
İÇİNDEKİLER	v
TABLO DİZİNİ	vii
ŞEKİL DİZİNİ	viii
SİMGE VE KISALTMALAR	x
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Testis'in Anatomisi	3
2.2. Testis'in Embriyolojisi	6
2.3. Testis'in Histolojisi	8
2.3.1. Seminifer Tübüller	9
2.3.2. Spermatogenetik Hücreler	10
2.3.3. Spermiyogenez	11
2.3.3.1 Golgi Fazı	11
2.3.3.1 Akrozomal Faz	12
2.3.3.3. Maturasyon Fazı	13
2.3.4. Sertoli hücreleri	13
2.3.5. İnterstisyel doku	14
2.3.6. Leydig hücresi	14
2.3.7. Testis histofizyolojisi	15
2.4. Karbon tetraklorür (CCl ₄)	15
2.4.1. Karbon tetraklorürün fiziksel ve kimyasal özellikleri	15
2.4.2. Karbon tetraklorürün absorpsiyonu, dağılımı, atılımı	16
2.4.3. Karbon tetraklorürün kullanım alanları	16
2.4.4. Karbon tetraklorürün organizmaya etkileri	16
2.4.5. Karbon tetraklorür (CCl ₄) toksisitesinin serbest radikaller ile ilişkisi	17
2.5. FLAVONOİDLER	18
2.5.1. Flavonoller	19
2.5.2. Kuersetin	21
2.5.2.1. Kuersetinin Yapısı ve Genel Özellikleri	21
2.5.2.2. Kuersetinin Emilimi ve Atılımı	22
2.5.2.3. Kuersetinin Antioksidan Özellikleri	23
3. GEREÇ ve YÖNTEMLER	25
3.1. Deney Hayvanları	25
3.2. Kimyasallar	26
3.3. Vücut Ağırlıklarının Ölçümü	26
3.4. Bouin Çözeltilisinin Hazırlanması	26
3.5. Dokuların Alınması	26

3.6. Testis Ağırlıklarının Ölçümü	26
3.7. Işık Mikroskobu için Dokuların Hazırlanması	27
3.8. Periyodik Asit-Schiff+Hematoksilen (PAS+H) Boyasının Hazırlanışı	27
3.9. Kesitlerin Alınması ve Boyanması	28
3.10. Histolojik Değerlendirme	31
3.11. İstatistiksel Analiz	31
4. BULGULAR	31
4.1. İstatistiksel Bulgular	31
4.1.1. Gruplara göre vücut ağırlıkları karşılaştırması	31
4.1.2. Deney öncesi-deney sonrası ağırlık kıyaslaması	33
4.1.3. Deney sonrası testis ağırlık kıyaslaması	34
4.2. Histolojik Bulgular	36
4.2.1. Kontrol grubu	36
4.2.2. CCl₄ grubu	36
4.2.3. Kuersetin grubu	36
4.2.4. Kuersetin + CCl₄ grubu	36
5. TARTIŞMA	46
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	51
KAYNAKLAR DİZİNİ	52
ÖZGEÇMİŞ	62

TABLO DİZİNİ

Tablo 3.1. Doku takip yöntemine ait süreler	27
Tablo 3.2. Hematoksilen & Eozin boyama yöntemi basamakları süreleri	29
Tablo 3.3. PAS+H boyama yöntemi basamakları süreleri	30
Tablo 4.1. Gruplara göre ilk ağırlık-son ağırlık karşılaştırılması	32
Tablo 4.2. Deney öncesi deney sonrası ağırlık kıyaslaması	33
Tablo 4.3. Gruplara göre sağ testis-sol testis karşılaştırması	34

ŞEKİL DİZİNİ

Şekil 2.1. Erkek genital sistemi	3
Şekil 2.2. Testisin anatomik yapısı	4
Şekil 2.3. Testisin gelişimi	7
Şekil 2.4. Spermiyogenezin aşamaları ve olgun spermin yapısı	12
Şekil 2.5. Seminifer tübülde Sertoli hücresi	13
Şekil 2.6. CCl_4 'ün, $CCl_3O_2^-$ e dönüşmesi	18
Şekil 2.7. Bir flavonoidin genel yapısı	19
Şekil 2.8. Bazı flavonol bileşiklerinin molekül yapıları	20
Şekil 2.9. Kuersetin'in yapısı	20
Şekil 4.1. Sıçanların deney öncesi vücut ağırlıklarının karşılaştırılması	32
Şekil 4.2. Deney sonrası ağırlık kıyaslaması	33
Şekil 4.3. Deney öncesi deney sonrası ağırlık kıyaslaması	34
Şekil 4.4. Sağ testis sol testis ağırlık kıyaslaması	35
Şekil 4.5. Kontrol grubunda testis dokusunun histolojik görünümü	37
Şekil 4.6. Kontrol grubunda testis dokusunun histolojik görünümü	38
Şekil 4.7. CCl_4 grubunda testis dokusunun histolojik görünümü	39
Şekil 4.8. CCl_4 grubunda testis dokusunun histolojik görünümü	40
Şekil 4.9. CCl_4 grubunda testis dokusunun histolojik görünümü	41
Şekil 4.10. CCl_4 grubunda testis dokusunun histolojik görünümü	42
Şekil 4.11 QE grubunda testis dokusunun histolojik görünümü	43
Şekil 4.12 QE grubunda testis dokusunun histolojik görünümü	44

Şekil 4.13 CCl₄+QE grubunda testis dokusunun histolojik görünümü

45

SİMGELER ve KISALTMALAR

ABP	Androjen Bağlayıcı Protein
AMH	Antimüllerian Hormon
SRY	Cinsiyet Belirleyici Gen
DNA	Deoksiribonükleik asit
FSH	Folikül Uyarıcı Hormon
H-E	Hematoksilen-Eozin boyası
hCG	İnsan Koryon Gonadotropin Hormonu
CCl ₄	Karbon tetraklorür
CAT	Katalaz
QE	Kuersetin
LDL	Düşük yoğunluklu lipoprotein
LPO	Lipid peroksidasyonu
LH	Luteinleştirici Hormon
MDA	Malondialdehit
m	Metre
µm	Mikrometre
MİM	Müllerian inhibitör madde
i.p	Periton İçi
PAS	Periyodik Asit Schiff
RNA	Ribonükleik Asit
°C	Santigrat Derece
cm	Santimetre
cAMP	Siklik Adenozin Monofosfat
SOD	Süperoksit Dismutaz
TBF	Testis Belirleyici Faktör

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Karbon tetraklorür, kimyada formülü CCl_4 olup, tetraklor metan gibi bir çok şekilde de isimlendirilen organik bir bileşiktir. Düşük seviyelerde tespit edilebilen tatlı kokulu ve renksiz bir sıvıdır. CCl_4 ilk olarak 1839 yılında klor ile kloroform reaksiyonu sonucu Fransız kimyager Henri Viktor Regnault tarafından sentez edilmiştir. Fakat günümüzde esas olarak metandan sentezlenir. CCl_4 , ozon gazına zarar veren bir sera gazıdır.

CCl_4 , günümüzde endüstride soğutucu floroklorokarbonların üretiminde dolayısıyla, klima ve soğuk hava deposu makinalarında, yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. CCl_4 , yüksek oranda toksik bir madde olarak insan ve hayvanlarda potansiyel kanserojenik bir etkiye sahiptir. CCl_4 , kolay buharlaştığı için kullanımı ve üretimi esnasında çevreye yayılabilir. Ayrıca kimyasal atık olarak havaya, toprağa ve suya geçişini kontrol etmek mümkün değildir. CCl_4 'ü imal eden ya da bu maddeyi kullanan çalışanlar ve de bu maddenin kullanıldığı kimya fabrikalarına yakın yerlerde ikamet eden kişiler en büyük risk grubundadır. Dünya çapında süregelen toksikolojik çalışmalar ışığında, bu maddelerin yerine çevreye daha az zarar veren alternatif maddelerin araştırılmasına hızlı bir biçimde devam edilmektedir. Bu tür kimyasal maddeler, bugünkü çağdaş yaşamın vazgeçilmez gereksinimleridir; fakat, bu maddelerin faydalarının yanında, çeşitli nedenlerle gerek doğrudan maruz kalma gerekse kullanımları sonucu insanlar üzerinde olumsuz etkileri olduğu görülmüştür.

Karbon tetraklorürün başta karaciğer olmak üzere böbrek, testis, kalp, akciğer, beyin ve diğer dokularda da toksik etkisinin olduğu çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir (Turkey, Pilkhwa, Kuhad & Chopra, 2005).

CCl_4 'ün, sperm motilitesi ve konsantrasyonunda azalmaya sebep olurken, anormal sperm sayısında da artış meydana getirdiği görülmüştür. Germinal hücrelerde dejenerasyon, interstisyel alanda ise ödem ve konjesyona sebep olmaktadır (Türk vd., 2013).

CCl_4 spermatogenik seri hücrelerinde dejenerasyon, bazal membran ayrılması, seminifer tübül atrofisi, interstisyel alanda genişleme ve sperm sayısında azalma meydana getirmektedir (Khan & Ahmed, 2009).

Bu sonuçlara göre, CCl_4 testis dokusunda ciddi histopatolojik hasarlara neden olmaktadır.

Bu maddenin, dokularda hasar oluşturma mekanizması, CCl_4 'ün sitokrom P450 enzimi aracılığıyla oldukça toksik triklorometil (CCl_3) ve triklorometil peroksil (CCl_3O_2) serbest radikallerine dönüşümü sonrası başlayan lipid peroksidasyonu ile ortaya çıkan oksidatif hasar olarak açıklanmıştır (Rao, Mangipudy & Mehendale, 1997). Vücutta, fizyolojik ortamda veya herhangi bir patolojik olay sonucunda oluşan serbest

radikaller ile bunların koruyucusu olan antioksidan savunma sistemi arasındaki dengenin serbest radikaller lehine kayması oksidatif stresi gösterir. Organizma, oksidatif hasara karşı enzimatik ve nonenzimatik antioksidan sistem ve moleküllerle korunur (Gülçen vd., 2012).

DeneySEL olarak gerçekleştirilmiş daha önceki araştırmalarda, CCl₄ maruziyetinin testislerde oksidatif doku hasarına ve lipid peroksidasyonuna yol açtığı bildirilmiştir. Ayrıca, daha önce yapılmış olan benzer çalışmalarda, CCl₄ toksisitesine bağlı olarak testis dokusunda histopatolojik değişikliklerin de meydana geldiği ortaya konmuştur (Gülçen vd., 2012).

Kuersetin, glikozidik bağlarla fenolik gruplara bir ya da daha fazla şeker grubunun bağlanmasıyla oluşan glikozitler ya da aglikonlar şeklinde bitkinin temel olarak yapraklarında ve diğer bölümlerinde meydana gelir.

Günümüzde çeşitli bitki çaylarının içerisinde bulunan kuersetin; biyokimya, gıda kimyası, boya kimyası, tıp kimyası, boya endüstrisi ve kozmetik alanlarında kullanılmaktadır. Genellikle birçok bitkinin kök, gövde ve çiçeklerinde farklı flavonoidlerle birlikte bulunur (Ergüzel, 2006).

Kuersetin, antioksidan özellikleri olan bir bitki pigmentidir. Bu pigment, LDL (düşük yoğunluklu lipoprotein) kolesterolün okside olmasını önleyebilir ve hücrelerin kansere dönüşmesini geciktirebilir. Ayrıca kuersetin adlı madde çok güçlü bir antioksidan olup kolesterolü düşürmekte, kalp hastalıkları ve akciğer kanseri riskini azaltmaktadır (Ergüzel, 2006).

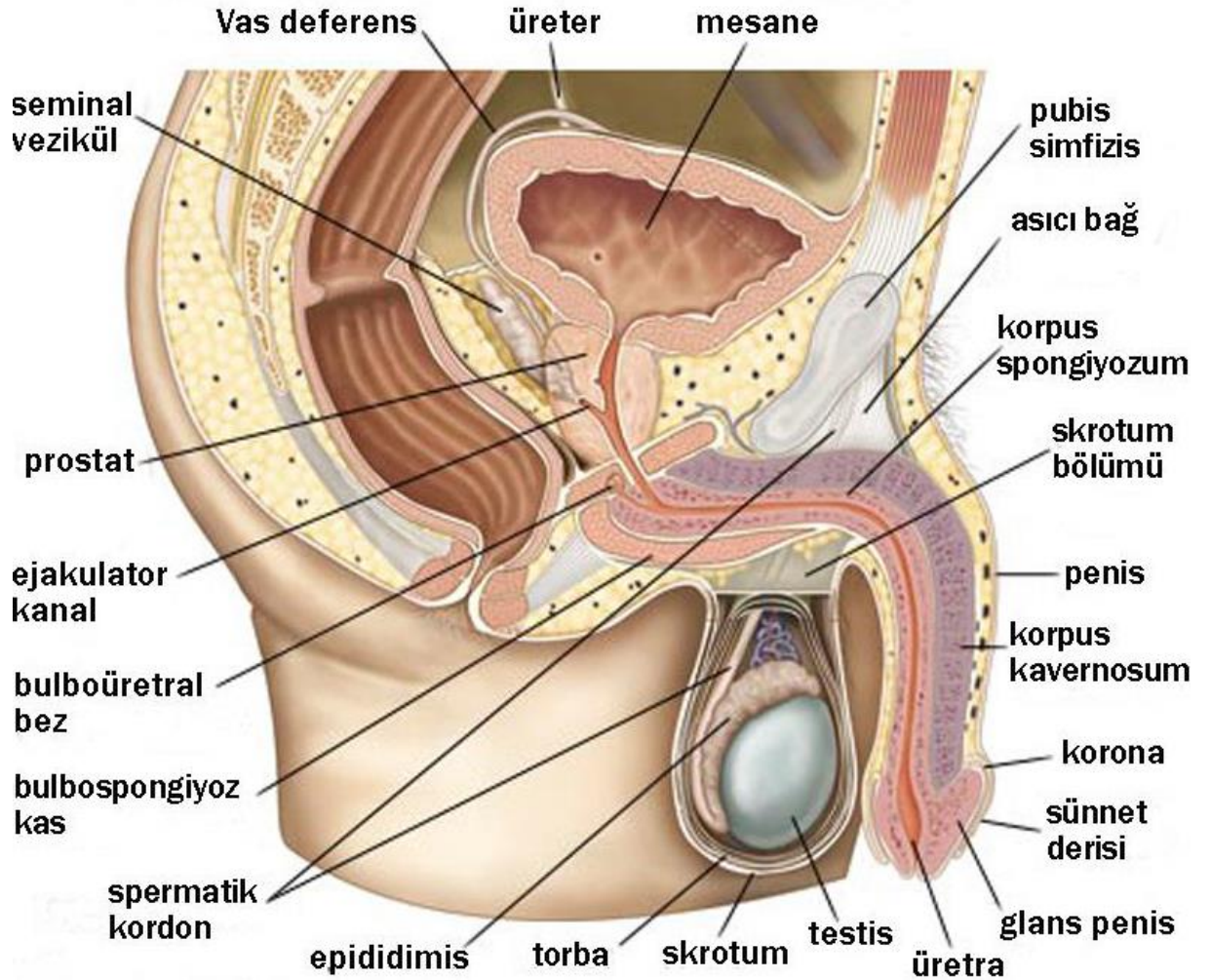
Kuersetin, serbest radikalleri yakalama özelliğinden dolayı güçlü bir antioksidandır (Cengiz, 2011).

Bu bilgiler ışığında bu çalışmanın amacı; erkek sıçanlara verilen CCl₄ etken maddesinin, testisler üzerinde oluşturduğu hasarın tespit edilmesi ve bu süre boyunca verilen kuersetinin bu hasar üzerindeki koruyucu etkilerinin araştırılmasıdır.

2.GENEL BİLGİLER

2.1. Testis Anatomisi

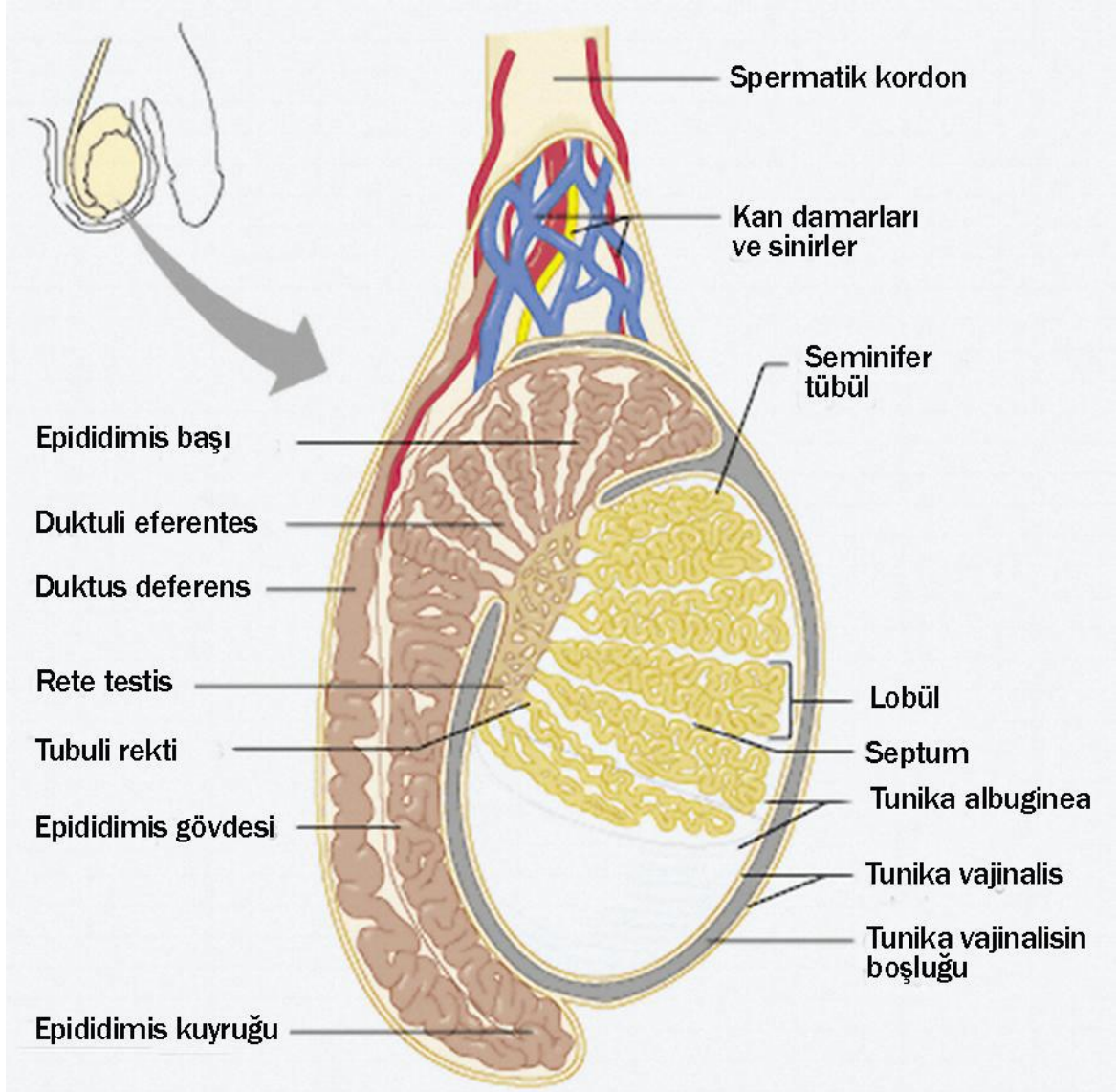
Erkek genital sistemi bir çift testis, genital boşaltım yolları (tubuli rekti, rete testis, duktuli efferentes, duktus epididimis, duktus deferens, duktus ejakulatoryus ve üretra), bu yollara açılan yardımcı bezler (vezikula seminalis, prostat, bulboüretral bezler) ve dış genital organ olan penisten oluşur (Özdamar & Sorkun, 2002), (Şekil 2.1), (Şekil 2.2)



Şekil 2.1. Erkek Genital Sistemi (Marieb, 2001)

Testisler, funiculus spermaticus'u oluşturan yapılarla birlikte scrotum içinde asılı duran, oval şekilli, eşey hücresi (spermium) ve erkeklik hormonu (testesteron) üreten bir çift bezdir. 4-5 cm yüksekliğinde, 2,5-3 cm eninde ve 2-3 cm kalınlığındadır. Ağırlığı yalnızca 10-14 gr'dır. İç ve dış yüzleri (facies medialis, facies lateralis); ön ve arka kenarları (margo anterior, margo posterior); üst ve alt uçları vardır (extremitas superior, extremitas inferior). Scrotum içinde hareketli ve sarkık olarak dururlar. Tunica vaginalis testis'i oluşturan tabakalar arasındaki boşlukta

mesorchium (testisin mesenterium'u) aracılığı ile asılı haldedirler. Tunica vaginalis testis, testislerin inmesi sırasında karın içinden skrotuma taşınan periton yapraklarını içerir. Dış tabakası (periorchium-lamina parietalis) paryetal; iç tabakası (epiorchium-lamina visceralis) visseral peritonu temsil eder. Sol testis genellikle daha aşağıda (1 cm kadar) bulunur. Testisler basınca karşı çok duyarlıdırlar ve bası ile fonksiyonlarını yitirirler. Aşırı düzeydeki ısı farklılıklarından da etkilenirler. Normal karın içi sıcaklıkta fonksiyon göstermezler. 2-3° C kadar daha düşük ısıda spermium üretirler.



Şekil 2.2. Testisin anatomik yapısı (Marieb, 2001)

Testisler, doğumdan önce yaşamın ilk iki ayında (embriyonal dönemde) karın içinde 3-5. bel omurlarının iki yanında, böbreklerin altında ve karın arka duvarına asılı durumdadırlar. Gelişme evrelerinde (dördüncü aydan itibaren) aşağıya doğru inerler. Yedinci ayda kasık kanalı hizasında bulunurlar. Doğum döneminde (son iki ay içinde) yer değiştirmeleri

hızlanır, kanaldan geçerler ve skrotuma inerler (descensus testis). Karın boşluğundan skrotuma geçme işlemi gubernaculum testis adı verilen fetal döneme ait fibröz bir yapının öncülüğünde başlatılır. Peritonun parmak şeklindeki küçük bir çıkıntısını oluşturan processus vaginalis, gubernaculum testis'i izleyerek karın ön duvarından kese içine kadar ulaşır. Tunica vaginalis testis, processus vaginalis'in kalıntısıdır. İnme işleminin gecikmesi sonucunda kanalın dış açıklığı yeterince kapanmazsa doğumsal kasık fıtığı (congenital inguinal hernie) oluşma riski artar. Bazen inme işlemi tek ya da çift taraflı olarak tamamlanmayabilir. Testisler karın içinde veya kasık kanalında kalabilir. Bunun tespiti için erkek çocukların doğum anından itibaren muayene edilmeleri ve böyle bir durum varsa ergenlik dönemine kadar cerrahi yöntemlerle testislerin indirilmeleri gerekir. Aksi takdirde testis dokusu ortamın sıcak olması nedeniyle normal fonksiyon gösteremez ve spermiumları üretmez. Testisler normal yerlerine indikleri halde kasık kanalı yolu ile buraya kadar ilerleyen iç organ fıtıklarında da baskı nedeniyle fonksiyon görmeyebilirler. Doğum döneminde testislerin skrotum içindeki yerlerine inmemesi haline kriptorşizm adı verilir. Her iki testisin karın boşluğunda kalmasına anorşizm, yalnız bir testisin skrotum içine inmesine monorşizm, bir testisin skrotumda diğerinin canalis inguinalis içinde kalmasına da ektopik testis adı verilir. Erken dönemde cerrahi girişim yapılarak kriptorşizm tedavisi yapılabilir.

Tunica vaginalis'in visseral yaprağının iç tarafında tunica albuginea denilen sağlam bir zar testisleri kuşatır. Elastikiyeti ve genişleme özelliği yoktur. Testis'in arka yüzünden girerek önce vertikal bir bölme oluşturur (mediastinum testis). Mediastinum testis'den başlayan septula testis isimli uzantılar dış kenarlara doğru uzanarak her bir testisi yaklaşık iki yüz elli-üç yüz kadar lobüle (lobulus testis) ayırır. Her bir lobülde testisin parankim dokusunu oluşturan 1-4 adet kanalcık (tubuli seminiferi contorti) bulunur. Bir kanalcığın uzunluğu ortalama yetmiş beş santimetredir. Buna göre bir testisteki tubuli seminiferi contorti uzunluğu yedi yüz elli metre; erkekteki toplam uzunluk 1,5 km kadardır. Testisin yapısı içinde yer alan Sertoli hücreleri (sustentacular hücre) spermiumların beslenmelerini sağlayan, fagositoz yapan ve inhibin denilen hormonu salgılayan hücrelerdir. Ayrıca Leydig hücreleri adını alan ara hücreler, erkeklik hormonu olan testosteron ile birlikte östrojen gibi etki gösteren östradiol hormonunu da sentezlerler. Bu hücrelerin çalışması beyin (hipofiz) tarafından denetlenir. Bu hücrelerin çalışması ile pubertal dönemdeki cinsiyet belirtileri ortaya çıkar. Bunlar; yüz, koltuk altı ve pubis kıllarının gelişmesi, gırtlak ve paranasal sinusların genişlemesi, kasların ve kemiklerin irileşmesidir.

Kriptorşizm durumunda üreme hücrelerinin fonksiyonel olmamasına rağmen Leydig hücreleri çalışarak hormon sentezini sürdürürler, androjenik hormonların devamlı salınımı nedeniyle de erkek eklenti bezleri büyür ve normal çalışır. Spermatidlerin gelişmesi (spermatogenesis) ve spermatidlerin spermatozoa'ya olgunlaşması (spermiogenesis) işlemleri iki

aylık bir süreçte ve tubuli seminiferi contorti'ler içinde gerçekleşir. Tubuli seminiferi contorti'lerin birleşmesi ile sayısı yirmi kadar olan tubuli seminiferi recti'ler başlar. Bunlar mediastinum testis'de bir araya gelerek rete testis'i oluştururlar. Rete testis'den başlayarak tunica albuginea'yı delen ve caput epididymidis'e ulaşan on beş-on sekiz kadar kanala da ductuli efferentes testis adı verilir. (Şekil 2.2)

Tunica albuginea'nın iç yüzünde bulunan tabaka tunica vasculosa adını alır.

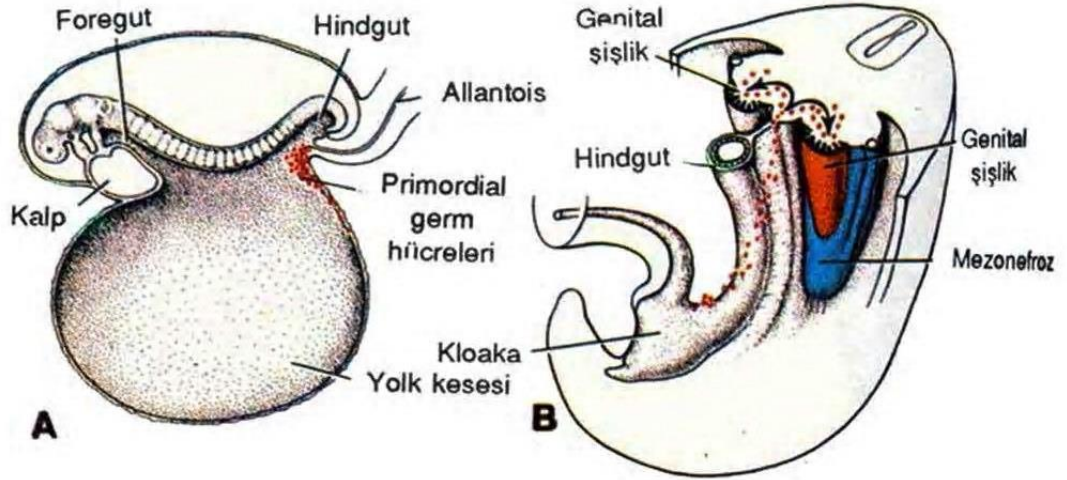
Testis'lerin üst ucunda görülen küçük ve yassı oluşum appendix testis adını alır. Embriyonik dönemdeki paramesonefrik kanalın bir kalıntısıdır ve kadınlardaki tuba uterina'nın abdominal ucunun eş değeridir (April, 1998; Dere, 1999; Moore, 2006; Sancak, 1999).

2.2. Testis Embriyolojisi

Embriyonun cinsiyeti, genetik açıdan daha fertilizasyon sırasında belirlenmiş olmasına rağmen, gelişimin 7. haftasına kadar gonadlar erkek veya dişi morfolojik özelliklerine sahip değildirler (Sadler, 1990). Genital sistem erken dönemde her iki cinsten de birbirine benzer, bu nedenle genital sistemin gelişiminin başlangıç dönemine seksüel gelişimin farklılaşmamış evresi adı verilir.

Gonadlar (testisler ve overler) üç kaynaktan köken alırlar;

- 1.** Karın arka duvarını döşeyen mezotel (mezodermal epitel),
- 2.** Altında bulunan mezenşim (embriyonik bağ dokusu),
- 3.** Primordial germ hücreleri (ilkel cinsiyet hücreleri) (Moore, 2008)



Şekil 2.3. Testisin gelişimi (Park, 2007)

Gonadal gelişimin ilk safhaları 5. haftada ortaya çıkar, mezonefrozun mediyalinde mezotelde bir kalınlaşma meydana gelir. Bu epitelin ve altındaki mezenşimin poliferasyonu ile mezonefrozun mediyalinde bir kabarıklık -gonadal kabarıntı- oluşur (Şekil 3). Parmak şeklindeki epitelyal kordonlar -gonadal kordonlar- altındaki mezenşim içerisine doğru kısa sürede büyürler. Farklılaşmamış gonad dışta yer alan korteks ve içte bulunan medulladan oluşmaktadır. Eğer embriyo XX seks kromozom kompleksine sahip ise, farklılaşmamış gonadın korteksi overe differansiye olur, medullası geriler. Embriyo XY cinsiyet kromozomu yapısına sahip ise medulla testise farklılaşır, korteks bir takım kalıntılar bırakarak geriler ve dejenere olur (Moore, 2008).

Cinsiyetin farklanması, bazıları otozomal olan çok sayıda genin rol oynadığı kompleks bir süreçtir. Seksüel dimorfizmin anahtarı kısa kolunda (Yp11) SRY genini (sex determining region on Y) taşıyan Y kromozomudur. Bu genin protein ürünü rudimenter durumdaki cinsiyet organlarının kaderini belirleyen genleri harekete geçiren bir transkripsiyon faktörüdür. SRY proteini testis belirleyici faktördür (TBF). Bu faktörün varlığıyla fetusun cinsiyeti erkek tipinde, yokluğunda da kız tipinde gelişir (Sadler, 1990). TBF, gonadal kordonları uyararak, onların farklılaşmamış gonadın medullasında derinlerine doğru uzamasına neden olur. Kordonlar burada dallanarak birbirlerine anastomoz yaparlar ve böylece rete testis oluşur. Kalın bir fibröz kapsül olan tunika albuginea geliştikten sonra, gonadal kordonların yüzey epiteli ile olan bağlantıları kaybolur. Yoğun bir yapısı olan tunika albugineanın gelişimi, testiküler gelişim için oldukça karakteristiktir. Genişleyen testis aşamalı olarak dejenere olan mezonefrozdan ayrılır ve kendi mezenterisi olan, mesonefros ile asılı hale geçer. Seminifer kordonlar, seminifer tübüllere, tubuli rekti ve rete testise farklılaşırlar (Moore, 2006).

Seminifer túbüller, interstisyel hücreleri (Leydig hücreleri) oluşturan mezenşim ile ayrılırlar. Sekizinci haftadan itibaren Leydig hücreleri, androjenik hormonları (testosteron ve androstenediyon) salgılamaya başlarlar. Bu hormonlar mezonefroz kanalların (Wolf) ve dış genitalerin erkek tipinde farklılaşmasını uyarır. Testosteron üretimini, insan koryonik gonadotropin (hCG) hormonu uyarır. Bu hormonun miktarı, 8-12 haftalık dönemde en yüksek değerine ulaşır. Testosterona ek olarak, fetal testisler, glikoprotein yapıda bir hormon olan antimülleriyan hormon (AMH) veya mülleriyan inhibitör madde (MİM) adı verilen bir hormonu da salgılamaktadır. AMH, Sertoli hücreleri (destek hücreleri) tarafından salgılanır. Bu hormonun salınması ergenliğe kadar devam eder, daha sonra ise seviyesi azalır. AMH, uterus ve tuba uterinalara farklılaşan, paramezonefroz kanallarının (Müller) gelişimini baskılar. Seminifer túbüller, ergenliğe kadar katı halde kalırlar, ergenlikten itibaren lümen gelişir. Seminifer túbül duvarında germinal ve non germinal olmak üzere iki tip hücre bulunur:

Sertoli hücreleri: Destek hücreleri olan bu hücreler, testisin yüzey epitelinden gelişirler. Non-germinal hücrelerdir.

Spermatogonyum: Sperm hücrelerinin öncüleri olan bu hücreler, primordiyal germ hücrelerinden farklılaşırlar. Germinal hücrelerdir.

Fetal testiste, Sertoli hücreleri, seminifer túbüllerdeki hücrelerin çoğunluğunu oluşturur. Daha sonraki fetal gelişme sırasında, testisin yüzey epiteli düzleşir ve yetişkin testisin dış yüzeyindeki mezoteli oluşturur. Rete testis, efferent kanalcıkları (duktuli efferentes) oluşturan, on beş-yirmi adet mezonefroz túbül ile devam eder. Bu kanalcıklar, duktus epididimisi oluşturan mezonefroz kanalı ile bağlanırlar (Moore, 2008).

2.3. Testis Histolojisi

Erkek üreme sistemi; skrotum içerisinde asılı halde duran ve bir septum ile birbirinden ayrılmış testislerden, testis içi genital kanallar (tübüli rekti, rete testis, duktuli efferentes), genital boşaltım kanalları (duktus epididimis, duktus (vas) deferens, duktus ejakulatoryus, üretra), yardımcı genital bezler (vezikula seminalis, prostat, bulbouretral bez) ve penisten oluşur.

Testis, ekzokrin ve endokrin fonksiyonlu bileşik túbüler bir bezdir (Arıncı & Elhan, 2006). Testisler, tunika albuginea adı verilen yoğun bağ dokusundan oluşan kalın bir bağ dokusundan oluşan kalın bir kapsül ile çevrilidir. Daha dış kısımdaki visseral katman olan tunika vajinalis kapsülü dıştan sarar. Tunika albuginea testisin arka yüzünde kalınlaşarak mediastinum testis adı verilen yapıyı oluşturur. Buradan bezin içine giren fibröz uzantılar (septum), bezi testis lopçukları/bölmeleri denilen yaklaşık

iki yüz elli adet piramidal bölmeye ayırır. Bu uzantılar kesintisiz değildir ve çoğunlukla bölmeler birbirleriyle bağlantılıdır. Her lobülde gevşek bağ dokusu ile sarılı 1-4 adet seminifer tübül yer alır. Bu bağ dokusu bol miktarda kan ve lenf damarı, sinirler ve Leydig hücreleri adı verilen interstisyel hücreleri içerir. Seminifer tübüller erkek üreme hücreleri olan spermatozoonları üretirken, interstisyel hücreler de testis androjenlerini salgılar.

Testisler, karın boşluğunun arka duvarında retroperitoneal olarak gelişirler (Arıncı & Elhan, 2006).

Fetüsün gelişmesi sırasında göç ederler ve skrotum içinde spermatik kordonların uçlarında asılı olarak bulunurlar. Skrotuma doğru gerçekleştirdikleri bu göç nedeniyle her bir testis kendisiyle birlikte peritonu, tunika vaginalis adı verilen seröz bir kese şeklinde skrotum içine sürükler. Tunika vaginalis dışta parietal, içte ise visseral bir tabakadan oluşur ve testisin ön ve yan kısımlarında tunika albugineayı örter (Gartner & Hiatt, 2003; Junqueira & Carneiro, 2005).

2.3.1. Seminifer tübüller

Seminifer tübüller fibröz bir bağ dokusu kılıfı, belirgin bir bazal lamina ve karmaşık yapıdaki çok katlı germinal ya da seminifer epitelden oluşur (Junqueira & Carneiro, 2005).

Her testiste yaklaşık iki yüz elli-bin kadar seminifer tübül bulunur. Her seminifer tübül karmaşık yapıda çok katlı bir epitelyum ile döşeli olup yaklaşık yüz elli-iki yüz elli mikrometre çapında ve otuz-yetmiş cm uzunluğundadır. Bir testisteki tübüllerin toplam uzunluğu iki yüz elli metre kadardır. Tübüller kıvrımlıdır ve uçlarına doğru lümenleri daralarak düz tübüller, ya da tübüli rekti olarak anılan kısa segmentler halinde devam eden kangallar şeklinde uzanır. Bu düz tübüller seminifer tübüllerini rete testis denilen, epitelyum ile döşeli kanalların oluşturduğu bir labirente bağlar. Anastomoz yapan rete testis kanalları, yaklaşık on-yirmi adet duktuli efferentes ile epididimin baş kısmına bağlanmaktadır.

Seminifer tübüller fibröz bir bağ dokusu kılıfı, belirgin bir bazal lamina ve germinal ya da nongerminal hücreler epitelden oluşur. Seminifer tübülü saran fibröz tunika propria birkaç fibroblast katmanından oluşmuştur. Bazal laminaya yapışık olan en içteki katman, düz kas özellikleri de gösteren yassılaştırmış miyoid hücreler içerir. Bu yassı hücreler, her bir tübülün çevresinde devamlı bir tabaka oluştururlar ve düz kas hücrelerinin ultrastrüktür özelliklerini gösterirler. Miyoid hücreler, seminifer tübüllerde gözlemlenen ritmik kasılmalardan sorumludur. Aynı zamanda kan-testis bariyerinin önemli bir bileşenidir. Yaşın ilerlemesiyle bu tabaka kalınlaşır (Bloom & Fawcett, 1994; Junqueira & Carneiro, 2005; Ross, Romrell & Kaye, 1995).

2.3.2. Spermatogenetik Hücreler

Düzenli olarak bölünerek matür spermlere farklılaşan hücreler olup, 4-8 tabaka hücre içerirler. Bazaldan lümene doğru hücre tipleri aşağıdaki gibidir;

Spermatogonyumlar

Spermatogonyumlar, seminifer tübülün bazal membranına oturmuş olan, aralıksız yenilenen kök hücre topluluğudur. Bunlar çapı yaklaşık on iki mikrometre olan ve nispeten büyük, yuvarlak bir çekideği bulunan ve en az olgunlaşmış grubu oluşturan diploid kök hücrelerdir (Ovalle & Nahirney, 2009).

Spermatogonyumlar, spermatogonyal kök hücrelerden köken alırlar ve ergenlikte başlayan başarılı mitotik hücre bölünmeleri geçirirler.

İki temel morfolojik spermatogonyal hücre tipi gözlenebilir; (1) tip A spermatogonyum (insan testislerinde A koyu ve A açık spermatogonyumlar olarak gözlenir); (2) tip B spermatogonyum (Junqueira & Carneiro, 2005).

Tip A açık spermatogonyumlar soluk boyanan, ince granüler kromatinli oval çekirdek içerirler. Mitotik bölünmeleri sonucunda farklılaşarak tip B spermatogonyumları oluştururlar. Tip B spermatogonyumlar, merkezi yerleşimli çekirdekçiğe sahip sferik çekirdek içerirler. Çekirdek kromatini çekirdekçik çevresinde ve çekirdek kılıfı boyunca yoğunlaşma gösterir (Ross vd., 1995).

Spermatositler

Başarılı mitotik bölünmeler geçirdikten sonra, tip B spermatogonyumlar, son S fazını (DNA sentezi) tamamladıktan hemen sonra mayoz bölünmenin profaz aşamasına girerler. Spermatogenik hücrelerin yaşam süresindeki esas DNA sentez aktivitesinin bu son turu, mayozun profaz I aşamasına başlayan bir primer spermatositin spermatogonyuma göre iki kat DNA miktarına sahip olacağını belirler. Primer spermatosit 4C DNA miktarına sahiptir ve 1C hücre başına yaklaşık 1.5 pg DNA'ya eşdeğerdir.

Spermatositler, Sertoli hücreleri arasındaki sıkı bağlantıların hemen üzerinde, seminifer tübülün adluminal bölümünde yer alırlar. Böylece, mayoz bölünmeler kan-testis bariyerinin içinde gerçekleşir. Sekonder spermatositler çok hızlı bir şekilde interfaz aşaması ve belirgin bir DNA sentezi olmayan ikinci mayoz bölünmeye giderler. Sekonder spermatositlerin bölünmesi, 23 kromozom taşıyan iki hücrenin, spermatidlerin oluşmasıyla sonuçlanır. Böylece mayoz bölünme sürecinin

sonunda haploit sayıda kromozom içeren spermatidler oluşur (Abraham, 2006; Junqueira & Carneiro, 2005; Kierszenbaum, 2006).

Erken ve geç dönem spermatidler

Spermatidler, yaklaşık 9 µm çapında, haploid kromozom sayısına ve DNA içeriğine sahip hücrelerdir. Spermatidler, Sertoli hücrelerinin girintileri arasına gömülmüş durumdadır. Spermatidler lümene doğru yol alırken şekilleri uzar ve spermijogenezis adı verilen, mitoz bölmenin gerçekleşmediği karmaşık bir olgunlaşma işleminden geçer (Ovalle & Nahirney, 2009).

Spermatozoonlar

İnsanlarda bir spermatogonyumdan olgun bir spermijum spermatogenezis olayı ile yaklaşık olarak altmış dört günde meydana gelir ve olgun bir spermijum baş, boyun ve kuyruk bölgelerinden oluşur. Baş bölgesinde yassı biçimli, yoğun kromatin içeren bir çekirdek ve çekirdeğin anterior yarısını örten, özel bir tip lizozom olarak kabul edilen akrozom bulunur. Akrozom hyaluronidaz, nöraminidaz, asit fosfataz ve en önemlisi akrozimin denilen tripsin benzeri proteazlar gibi hidrolitik enzimleri içerir. Boyun bölgesi baş ile kuyruk arasındaki bağlantıyı sağlayan dar bir parçadır ve sperm kuyruğunun merkezi parçası olan aksonemi oluşturan proksimal sentriol ile distal sentriol olmak üzere bir çift sentriol bulundurur (Arıncı & Elhan, 2006). Kuyruk bölgesi ise orta parça, esas parça ve son parça olmak üzere üç kısımdan oluşur. Kuyruğun orta parçasında sarmal olarak dizilmiş mitokondriler, 9+2 mikrotübüler yapıdaki aksonem ve sperm boynundaki bağlantı parçasından kuyruk boyunca uzanan dokuz adet dış yoğun fibrillerden oluşmuştur. Esas parça kuyruğun en uzun parçasıdır ve sperm in öne hareketi sırasında mikrotübüler kayma ve kıvrılma için sağlam bir iskelet oluşturan yedi adet dış yoğun fibrille sarılı merkezi aksonem ve bir fibröz kılıftan oluşur. Kuyruğun en kısa parçası olan son parçada ise yalnızca aksonem bulunur, dış yoğun fibriller ve fibröz kılıf bulunmaz (Gartner & Hiatt, 2003; Junqueira & Carneiro, 2005).

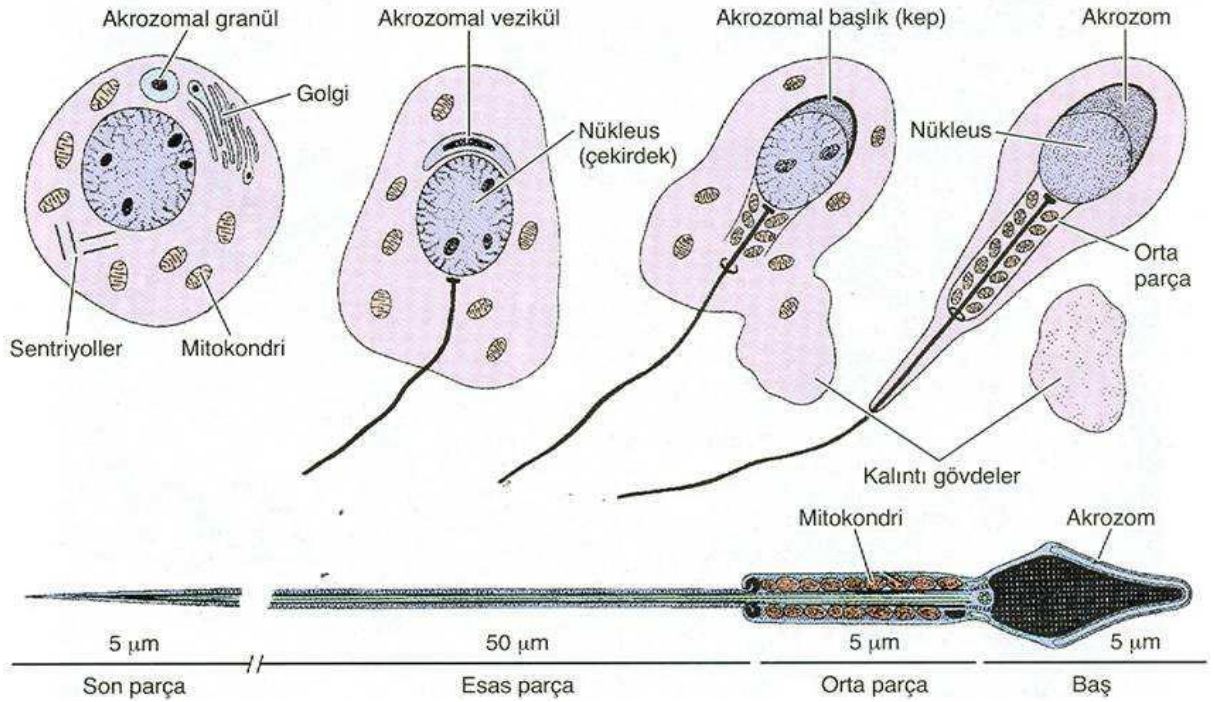
2.3.3. Spermijogenez

Spermijogenez, spermatozoon üretiminin son aşaması ve spermatidlerin, erkek DNA'sını ovuma aktarmak için son derece özelleşmiş hücreler olan spermatozoona dönüşme sürecidir. Bu süreçte hücre bölünmesi gerçekleşmez.

Spermijogenez üç faza ayrılabilir:

2.3.3.1. Golgi Fazı: Spermatidlerin sitoplazması, çekirdeğin yakınında belirgin bir Golgi kompleksi, mitokondriler, bir çift sentriyol, serbest ribozomlar ve düz endoplazmik retikulum tübülleri içerir. Küçük PAS-pozitif proakrozomal granüller Golgi kompleksinde birikirler ve bunun

hemen sonrasında birleşerek membranla sınırlanmış bir akrozomal vezikülün içinde yer alan tek bir akrozomal granülü oluştururlar. Sentriyoller göç ederek akrozomun olduğu bölgenin karşı tarafında hücre yüzeyine yakın bir konuma gelirler. Flagellar aksonem oluşmaya başlar ve sentriyoller yeniden nükleusa doğru geri dönerken hareket ettikçe aksonem komponentleri çevresine sarılır (Şekil 2.4).



Şekil 2.4. Spermiyogenezin aşamaları ve olgun spermin yapısı (Junqueira & Carneiro, 2005)

2.3.3.2. Akrozomal Faz: Akrozomal vezikül ve granül, yoğunlaşan çekirdeğin ön yarısını kaplayacak şekilde yayılır ve bundan sonra akrozom adını alır. Akrozom, hyaluronidaz, nöraminidaz, asit fosfataz ve etkisi tripsine benzer bir proteaz gibi bazı hidrolitik enzimler içerir. Akrozom bu yüzden lizozomun özelleşmiş bir tipi gibi iş görür. Bu enzimlerin, korona radiata hücrelerini birbirinden ayırdığı ve zona pellusidayı sindirdiği bilinmektedir. Bunlar henüz ovulasyona uğramış yumurtayı çevreleyen yapılardır. Spermatozoonlar ovumla karşılaştığında akrozomun dış membranı birçok bölgede plazma membranı ile kaynaşarak akrozomal enzimlerin boşalmasına yol açar. Bu işlem akrozomal reaksiyon olarak bilinir ve fertilizasyonun ilk basamaklarından biridir.

Akrozomal faz sırasında hücrenin akrozomu içeren ön kutbu, seminifer tübülün tabanına doğru yönelir. Buna ek olarak nükleus uzar ve daha yoğun bir hale gelir. Aynı zamanda sentriyollerden bir tanesi gelişerek flagellumu oluşturur. Mitokondriler de flagellumun proksimal parçası etrafında toplanarak orta parça adı verilen kalınlaşmış bölgeyi oluşturur. Bu bölge spermatozoonların hareketlerinin kaynağını aldığı yerdir (Şekil 2.5).

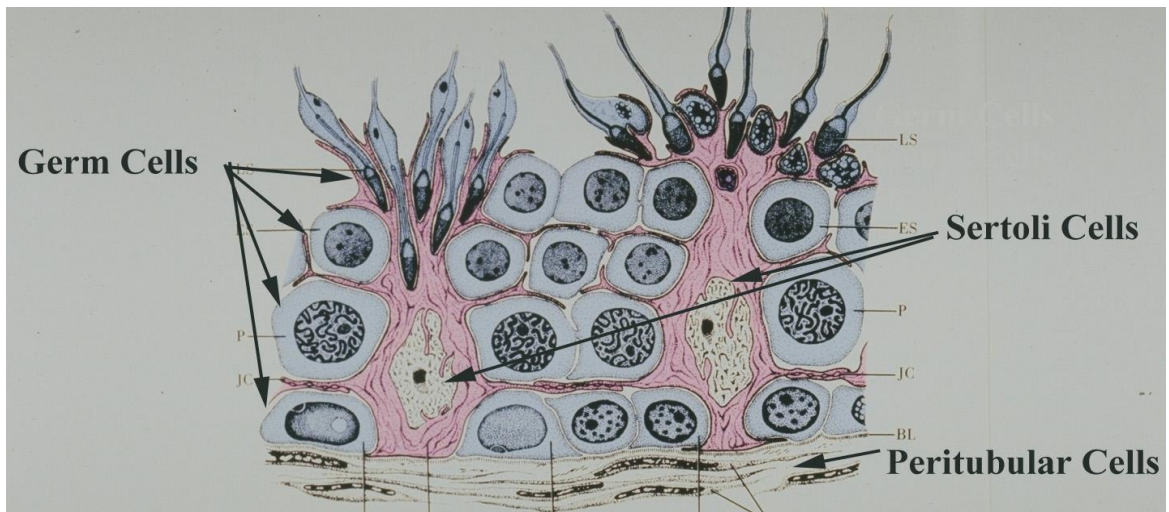
Mitokondrilerin bu şekilde yerleşmesi, bu organellerin hücre hareketi ve yüksek enerji tüketimi ile ilgili olan bölgelerde toplanmasına başka bir örnek teşkil eder. Flagellum hareketi, mikrotübüller, ATP ve dinein denilen ATPaz aktivitesine sahip bir proteinin etkileşmesi sonucunda oluşur.

2.3.3.3. Matürasyon Fazı: Geriye kalan artık sitoplazma, Sertoli hücreleri tarafından fagosite edilir ve spermatozoonlar tübülün lümenine doğru salınırlar (Junqueira & Carneiro, 2005) (Şekil 2.5).

2.3.4. Sertoli hücreleri

Sertoli hücreleri ergenliğe kadar seminifer epitelin dominant hücre tipidir. Ergenlikten sonra, tübüleri döşeyen hücrelerin yaklaşık %10'unu oluşturur. Daha ileri yaştaki erkeklerde spermatogenez hücre popülasyonu düştüğü zaman, Sertoli hücreleri tekrar epitelin ana elemanı haline gelir.

Sertoli hücreleri testislerin işlevi açısından çok önemlidir. Bu hücreler spermatogenez serisindeki hücreleri saran uzun, piramidal hücrelerdir. Sertoli hücrelerinin tabanları bazal laminaya tutunur, tepe kısımları ise çoğunlukla seminifer tübülün lümenine uzanır (Şekil 5).



Şekil 2.5. Seminifer tübülde Sertoli hücresi (Senger, 2011)

Sertoli hücrelerinin işlevleri :

1. Gelişmekte olan spermatozoonların desteklenmesi, korunması ve beslenmesinin düzenlenmesi.

2. **Fagositoz.** Spermiyogenez sırasında fazla spermatid sitoplazması artık cisimcikler şeklinde atılır. Bu sitoplazmik parçacıklar Sertoli hücrelerindeki lizozomlar tarafından fagosite edilir.

3. **Salgılama.** Sertoli hücreleri sürekli olarak seminifer tübüllere genital kanallar yönünde akan ve spermlerin taşınması için kullanılan bir sıvı salgılar. Androjen-bağlayıcı protein üretimi folikül uyarıcı hormon

(FSH) ve testosteron kontrolü altında Sertoli hücreleri tarafından gerçekleştirilir ve seminifer tübül içinde spermatogenez için gerekli olan testosteronun yoğunlaştırılmasını sağlar. Sertoli hücreleri testosteronu östradiole çevirebilir. Bu hücreler aynı zamanda, ön hipofiz bezinden FSH sentezini ve salgılanmasını önleyen inhibin adı verilen bir peptid salgılar.

4. Anti-Müllerian hormon üretimi. Ayrıca Müller kanalını baskılayıcı hormon olarak da adlandırılan ve dönüştürücü büyüme faktörü ailesine üye bir glikoprotein olan bu hormon embriyonik gelişme sırasında erkek fetusta Müller kanallarının (paramezonefrik) gerilemesini sağlar. Testosteron ise Wolf (mezonefrik) kanallarından köken alan yapıların gelişmesini sağlar.

5. Kan-testis bariyeri. Seminifer tübüllerin iç kısmıyla kan arasında bir bariyerin bulunması, testis sıvısında kandan gelen çok az madde bulunmasına yol açar. Testis kapilleri pencere tiptedir ve büyük moleküllerin geçişine izin verir. Spermatogonyumların kanda bulunan maddelere kolayca ulaşılabilir. Ancak, Sertoli hücreleri arasında bulunan engelleyici bağlantılar, bir bariyer oluşturarak büyük moleküllerin Sertoli hücreleri arasındaki boşluğa taşınmasını engeller. Böylece spermatogenezin daha ileri aşamalarındaki germ hücreleri, kandaki zararlı maddelere karşı korunmuş olur.

6. İnhibin B üretimi: İnhibin B hipofizdeki FSH üretimini engeller (Junqueira vd., 2005).

2.3.5. İnterstisyel doku

Testisin interstisyel dokusu, androjen üretimi açısından önemlidir. Testislerde seminifer tübüller arasındaki boşluklar bağ dokusu, sinirler, pencere kapillerler ve lenf damarları ile doludur. Bağ dokusu değişik tipte hücreler içerir; bunlar arasında fibroblastlar, farklılaşmamış bağ dokusu hücreleri, mast hücreleri ve makrofajlar bulunur. Ergenlikte (puberte ile birlikte) bir hücre tipi daha işlevsel olarak belirgin hale gelir. Bu hücreler, testisin interstisyel ya da Leydig hücreleridir (Alıcı, Kösem, Çalka, Kotan & Mercan, 2003).

2.3.6. Leydig Hücresi

Leydig veya testisin interstisyel hücreleri, yuvarlak ya da poligonal şekilli olup, eozinofilik bir sitoplazmaya sahiptir. Merkezi yerleşimli çekirdek kaba kromatin granülleri ve belirgin çekirdekcik içerir. Steroid sentez eden hücre özellikleri taşıyan sitoplazma, yaygın agranüler endoplazmik retikulum, küçük lipid damlacıkları, tübüler kristal mitokondriyonlar, lipofuksin granülleri ile Reinke kristali ve prekürsörlerine sahiptir. Leydig hücreleri, sekonder seks karakterlerinin gelişmesinden sorumlu erkeklik hormonu olan testosteronu üretirler. Testosteron sentezi mitokondriyon ve agranüler endoplazmik retikuluma bulunan enzimlerce

gerçekleştirilir. İnterstisyel hücrelerin hem aktiviteleri ve hem de miktarları hormonal uyarımlara bağlıdır. İnsanda gebelik sırasında üretilen plasental gonadotropik hormon, maternal kandan fetusa geçer ve androjenik hormonları üreten, fetal testiküler interstisyel hücreleri uyarır. Androjenik hormonlar, gelişim sırasında, erkek genital organların farklılaşması için gereklidir (Abraham, 2006; Sadler, 1990).

2.3.7. Testis histofizyolojisi

Vücut içi sıcaklığının (37°C) altındaki sıcaklıklarda oluşan spermatogenezin regülasyonunda ısı çok önemlidir. Testiküler ısı yaklaşık 35 °C'dir, bu birkaç mekanizma ile kontrol edilir. Zengin bir venöz pleksus (pampiniform pleksus) her bir testiküler arterin etrafını sarar, testiküler ısının sürdürülmesinde önemli olan bir karşı ısı akımı sağlar. Diğer faktörler ise skrotumdaki terin buharlaşması ile ısı kaybı ve spermatik kordondaki kremaster kaslarının kasılması ile testislerin daha yüksek bir ısıda kalabileceği inguinal kanallara çekilmesidir.

Spermatogenez üzerinde en önemli etkiyi endokrin faktörler oluşturur. Spermatogenez, hipofizin foliküler stimülan (FSH) ve lüteinizan hormonlarının (LH) testiküler hücreler üzerindeki etkilerine bağlıdır. LH interstisyel hücreler üzerine etki ederek spermatogenik seri hücrelerinin normal gelişimi için gerekli olan testosteron yapımını stimüle eder. FSH'ın ise Sertoli hücrelerini etkileyerek adenilat siklaz yapımını stimüle ettiği ve sonuçta cAMP'nin artışına yol açtığı ve aynı zamanda ABP'nin sentez ve salgılanmasını sağladığı bilinmektedir. Bu protein testosteron ile bağlanır ve testosteronu seminifer tübüllerin lümenine taşır. Spermatogenez testosteron ile uyarılır, östrojen ve progesteronlarla inhibe edilir. Spermatozoonlar epididimise, uygun bir medyum olan testiküler sıvı içinde taşınırlar. Testiküler sıvı Sertoli hücreleri ve rete testis tarafından üretilir; bu sıvı steroidler, proteinler, iyonlar ve testosteronla birleşmiş ABP içerir (Junqueira vd., 2005).

2.4. Karbon tetraklorür (CCl₄):

2.4.1. Karbon tetraklorürün fiziksel ve kimyasal özellikleri

Karbon tetraklorür (CCl₄) saydam, yanıcı olmayan ve kolayca buharlaşabilen renksiz bir sıvıdır (Karaca vd., 2011).

CCl₄, -23°C'de katılaşır ve kaynama sıcaklığı 77°C'dir. Yoğunluğu 1,585 g/cm³ olan CCl₄ ' ün moleküler yapısı düzgün tetrahedron olup merkezinde karbon atomu bulunur. Apolar yapıya sahiptir, suda çözünmez. Fakat alkol gibi apolar çözücülerde çözünür. CCl₄ deneysel olarak karaciğer hasarı oluşturulmasında yaygın kullanılan bir ksenobiyotiktir (49).

CCl_4 kararlı kimyasal yapısı nedeniyle çok yavaş bozunur. Tahmini atmosferik yarı ömrü otuz-yüz yıldır (Pope & Rall, 1995).

2.4.2. Karbon tetraklorürün absorpsiyonu, dağılımı, atılımı

CCl_4 vücuda solunum, sindirim ve deri yoluyla alınabilir. İnsanlarda CCl_4 'ün toksik dozu solunum yolu ile alındığında 65 ppm, ağızdan alındığında ise 4 ml'dir. Emildikten sonra bütün organ ve dokulara dağılan CCl_4 en çok yağ dokusunda birikir. 2-6 gün içinde yavaşça dokulardan ayrılarak başlıca akciğerler ve az miktarda da böbrekler yoluyla atılır (Kayaalp, 1991).

2.4.3. Karbon tetraklorürün kullanım alanları

CCl_4 , klorinatlı bir hidrokarbon bileşiğidir. Önceleri tütüsü yapımında, yangın söndürücü olarak, kuru temizleme ajanı olarak, çözücü ve dondurucu olarak kullanılmasına rağmen, günümüzde yalnızca soğutucu (freon) floroklorokarbonların üretiminde ara kimyasal bileşik olarak kullanılmaktadır (Kitiz, 2011).

2.4.4. Karbon tetraklorürün organizmaya etkileri:

Zehirlenme belirtileri deri, solunum veya ağız yoluyla emilimini takiben hemen ortaya çıkar. CCl_4 zehirlenmesi merkezi sinir sisteminin baskılanmasına yol açar. Buna bağlı olarak görülen başlıca belirtiler; baş ağrısı, baş dönmesi, halsizlik, ataksi, görme bulanıklığı, uyuma hali ve bilinç kaybıdır. İlk günden itibaren bulantı, kusma ve karın ağrısı görülür. CCl_4 'ün emilimden birkaç gün sonra karaciğer yağlanması ve hasarı ile ilgili belirtiler ortaya çıkar. Karaciğer hücrelerinin nekrozu sonucu aspartat aminotransferaz (AST) ve aldolaz enzim düzeyleri artar. Protrombin zamanı uzar (Mayer & Hemmens, 1997). Uzun süreli düşük miktarda (45-100 ppm) CCl_4 solunması huzursuzluk, aşırı hareketlilik, bağırsaklarda düzensiz kasılmalara neden olur. Maruz kalma birkaç haftayı geçtiğinde ciltte kuruma, kabarıklık kırmızı lekeler, tırnaklarda kırılma ve kuruma ortaya çıkar. Solunmadığı sürece semptomlar azalır ancak tekrarlandığında yeniden ortaya çıkar (Güner, 2010).

İnsan vücudunun çevreden günlük ortalama 0.1 μg CCl_4 girişine maruz kaldığı bildirilmiştir (Gülçen vd., 2012).

CCl_4 'ün karaciğerde olduğu kadar böbrek, testis, kalp, akciğer, beyin ve kan gibi diğer dokularda da toksik etkisinin olduğu çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir. CCl_4 , böbreklerde akut ve kronik zedelenmeye yol açmaktadır (Kükner vd., 2010).

CCl_4 germ hücre kaybına, germinatif epitelde anormalliklere, mayoz bölünmede sorunlara, anormal şekil ve konsantrasyonda sperm görülmesine neden olmaktadır (Khan, 2012).

Deneyisel olarak yapılan çalışmalarda CCl_4 ' ün karaciğerde, mitotik aktiviteyi artırdığı, hepatositlerde dejenerasyon, hepatik yağ dejenerasyonu, mononükleer hücre infiltrasyonu, fibrozis, siroza ve kansere neden olduğu gösterilmiştir (Karaca vd., 2011).

CCl_4 ' ün sitokrom P450 enzimi aracılığıyla serbest radikallere yıkılımı hücre hasarını başlatır (Öğütürk, Çolakoğlu, Kuş, M.A., Kuş, İ. & Sarsılmaz, 2009).

CCl_4 ' ün toksik etkilerinden karaciğerde biyotransformasyonu sonucu oluşan triklorometil (CCl_3) radikali sorumludur. Bu radikal daha sonra oksijen ile birleşerek triklorometil peroksil (CCl_3O_2) radikalini oluşturur. Peroksil radikali, hücrenin zar yapısını bozarak hasarın oluşmasında birincil mekanizma olarak rol oynayan güçlü bir lipid peroksidasyon başlatıcısıdır (Çetin & Çetin, 2011).

CCl_4 , metabolizma ürünlerinden serbest radikaller aracılığıyla deney hayvanlarının böbrek, akciğer ve testis dokularında oksidatif hasara yol açan endüstriyel bir çözücüdür. CCl_4 'ün serbest radikalleri spermin hücre membranının çoklu doymamış yağ asitleriyle bağlanarak alkoksi ve redoksi radikalleri üretilip son derece reaktif lipid peroksiditleri oluşturur ve sperm konsantrasyonunu, hormon düzeylerini değiştirir ve enzim aktivitesinde azalmaya ve sonunda hasara veya nekroza sebep olur (Khan, 2012).

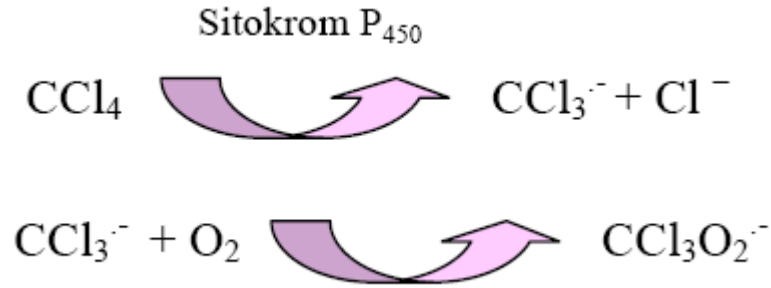
2.4.5. Karbon tetraklorür toksisitesinin serbest radikaller ile ilişkisi

CCl_4 karaciğerde etkisini iki aşamalı olarak oluşturur (Çolak, 2011). İlk olarak sitokrom P-450 tarafından reaktif serbest radikal olan triklorometil ($CCl_3\cdot$)' e dönüştürülmesi sonucu CCl_4 ' ün toksik etkisi hücre zarı hasarı ile ilişkili olan lipid peroksidasyonuna sebep olur (Öğütürk vd., 2009). Bu hasar su ve sodyum geçirgenliğini artırır. Apolipoprotein sentezini azaltır ve karaciğer yağlanması oluşur.

Hasar mekanizmasında ilk olarak CCl_4 , sitokrom P-450 tarafından triklorometil'e ($CCl_3\cdot$); daha sonra triklorometil ($CCl_3\cdot$) oksijen varlığında hızla triklorometil perokside ($CCl_3O_2\cdot$) veya hidrojen atomlarını kaybetmiş olan kloroform formuna dönüşür (Şekil 2.6). Oluşan bu serbest radikaller lipidlere, proteinlere ya da nükleotidlere kovalent olarak bağlanır (Ajiboye, 2011; Karadeniz, Yıldırım, Çelebi, 2007; Şahin, 2013). Daha sonra sekonder olarak oluşan konjuge dien, lipidhidroperoksit ve malondialdehit gibi yapılar ile kısa zincirli karbonhidratlar oluşur. Toksik etki sonucu oluşan serbest oksijen radikalleri, hücre membranlarındaki fosfolipidlerde bulunan doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonuna neden olarak karaciğer hücre nekrozuna yol açarlar. Triklorometil ($CCl_3\cdot$) radikalinin oksijenle reaksiyonu sonucu meydana gelen $CCl_3O_2\cdot$ radikali de kuvvetli bir lipid peroksidasyonu başlatıcısıdır. Bu olayları takiben serbest radikal

üretimi karaciğerde antioksidan savunmaları aşar ve bu hücre membranlarının oksidatif yıkımı ve ciddi doku hasarı ile sonuçlanır. Ayrıca bu serbest radikalın hedefi sadece karaciğer değil aynı zamanda böbrekler, kalp, akciğer, testis, beyin ve kan gibi diğer dokularda serbest radikal oluşumuna neden olabilir. (Basu vd., 2003; Lima, Fernandes-Ferreira & Pereira-Wilson 2007; Orfila vd., 1999; Sahreen, Khan, M. R. & Khan, R. A., 2013).

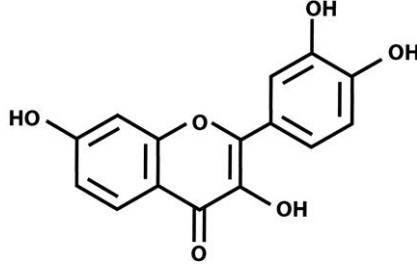
CCl_4 ile oluşan hepatotoksisite kısmi olarak dokulardaki oksijen basıncı ile de ilişkilidir. Düşük oksijen basıncında CCl_4 metabolizmasının ilk basamağında C-Cl bağı sitokrom p450 monooksijenaz sistemi ile katalizlenir. Triklorometil (CCl_3^-) ve Cl^- radikalleri oluşur. Triklorometil (CCl_3^-), hidroksil radikallerde olduğu gibi lipid peroksidasyonunu başlatır. Lokal olarak meydana gelen serbest radikaller membran fosfolipidlerin içinde var olan polienik yağ asitlerinin otooksidasyonuna neden olur. Lipidlerin oksidatif yıkımı başlar ve oksijen ile reaksiyondan sonra organik peroksitler meydana gelir. Peroksit radikallerden yeni radikaller meydana geldiği için bu reaksiyon otokatalitiktir. Lipidlerin yapısının bozulması nedeniyle endoplazmik retikulumun yapı ve fonksiyonunda hızlı bir yıkım başlar (Lima, 2007; Öztürk vd., 2009) (Şekil 2.6).



Şekil 2.6. CCl_4 'ün, CCl_3O_2^- e dönüşmesi (Şahin, 2011)

2.5. Flavonoidler

Flavonoidler, bitkiler aleminde yaygın olarak bulunan doğal polifenolik bileşikler içeren büyük bir gruptur. Doğal olarak bitkilerin gövdelerinde, yapraklarında, kabuklarında, çiçeklerinde ve köklerinde bulunurlar. Yapılarında C6-C3-C6 iskeleti bulundurlar. Üç karbonlu propan zincirinin üçüncü bir halka oluşturması, farklı şekiller alması veya fenil gruplarının farklı pozisyonlarda bağlanması sonucu flavonoidlerin farklı sınıfları oluşur (Şekil 2.7). Genellikle bu bileşikler sarı renkli bitkisel pigmentlerdir ve bitkilerde glikozitleri halinde bulunurlar (Merken & Beecher, 2000)



Şekil 2.7. Bir flavonoidin genel yapısı (Maher, Akaishi & Abe, 2006)

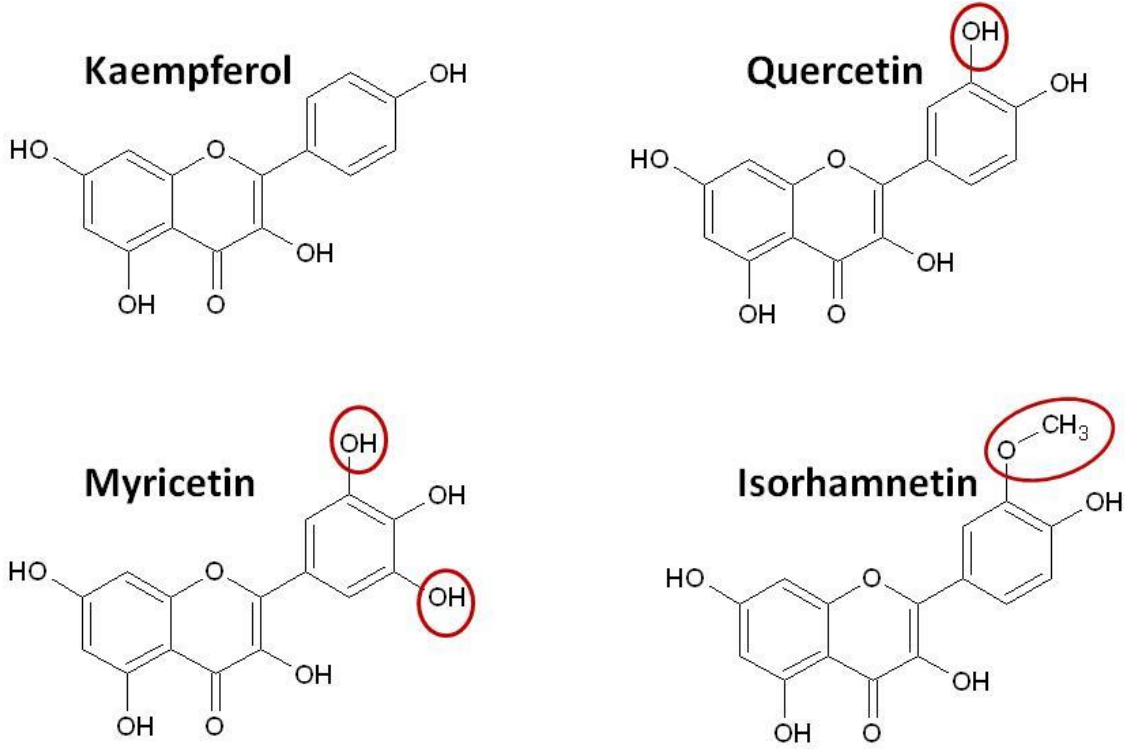
Flavonoidler, antioksidan özellikleri ile hücrelere zarar veren radikallerle etkileşerek radikalleri zararsız hale getirirler, antibiyotik etkisi göstererek virüs ve bakterilerin aktivitelerini engellerler. Bağışıklık sistemini güçlendirip C vitamininin vücut tarafından kullanımına yardımcı olan flavonoidler ülser ve ishal gibi hastalıklara karşı direnç sağlayarak romatizmal hastalıklarda ilaç gibi davranırlar. Vücuttaki alerjik reaksiyonların önlenmesini sağlarlar. Ayrıca vücut için önemli olan enzimlerin aktivitelerini düzenleyerek kanserli hücrelerin çoğalmasını engellerler (De Souza, 2008; Spencer, 2007).

Hollman ve arkadaşları flavonol ve flavonların günlük alımını 23 mg olarak rapor etmişlerdir (Hollman vd., 1996). Bununla birlikte Hollanda'da kuersetin flavonolünün günlük kullanımının 16 mg olduğu rapor edilmiştir (Karaca vd., 2011). Ortalama yiyeceklerle flavonoid alımının 26 mg/gün olduğu belirlenirken, baskın olarak bulunan flavonoidin kuersetin olduğu saptanmıştır (Burak & Çimen, 1999,; Karakaya & El, 1999).

2.5.1. Flavonoller

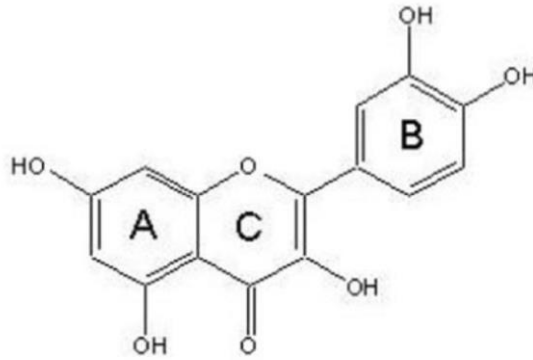
Flavonoid alt sınıfından olan flavonoller 3-OH içeren flavonoidlerdir.

Flavonollere örnek olarak kamferol, kuersetin, miyrisetin ve isorhamnetin gibi bileşikler verilebilir (Şekil 2.8.).



Şekil 2.8. Bazı flavonol bileşiklerinin molekül yapıları (Croizer, 2000)

Flavonollerin molekül yapısında pozisyon 4'te çift bağlı-oksijen atomu vardır. Bu molekül *Kuersetin* olarak bilinen yaygın bir flavonol'dür (Şekil 2.9.).



Şekil 2.9. Kuersetin'in yapısı (Casagrande vd., 2005)

Diyet ürünlerinde, birçok bitki ve gıda maddesinde en çok bulunan flavonoldür. Soğan (*Basaliye allium cepaonionoignon*) özellikle kuersetince çok zengindir. Antioksidan etkileri kanıtlanmıştır (Ergüzel, 2006).

2.5.2. Kuersetin

2.5.2.1. Kuersetinin Yapısı ve Genel Özellikleri

Kuersetin, glikozidik bağlarla fenolik gruplara bir ya da daha fazla şeker grubunun bağlanmasıyla oluşan glikozitler ya da aglikonlar şeklinde bitkinin temel olarak yapraklarında ve diğer bölümlerinde meydana gelir (Kalender, Kaya, Durak, Uzun & Demir, 2012).

Kuersetin bir biyoflavonoid türevidir olup daha çok sebze ve meyvelerde özellikle de elma, soğan, brokoli ve kırmızı şarapta bulunmaktadır. Antioksidan, antitumoral, antiinflamatuvar, antiallerjen, antiviral, antibakteriyel, antitrombotik, antihipertansif, antiaritmik ve antihumoral aktiviteler ile geniş bir klinik etki spektrumuna sahiptir (Formica, 1995).

Kuersetin, serbest radikalleri yakalama özelliğinden dolayı güçlü bir antioksidandır. Bu özelliğiyle kardiyovasküler hastalıklardan koruduğu bilinmektedir (Cengiz, 2011).

Kuersetin, serbest radikal toplama özelliğinin yanı sıra demir ve bakır gibi metal iyonlarını şelatlama özelliği olan güçlü bir antioksidandır. Bu özelliklerinden dolayı kuersetinin renal iskemi-reperfüzyon hasarına karşı koruyucu rolü vardır. Kuersetin renal oksidatif hasarı azaltır ve iyileşme sürecini kolaylaştırır (Polat, Tokyol, Kahraman, Sabuncuoğlu, Yılmaz, 2006).

Kuersetin vücuttaki serbest radikallerin neden olduğu yıkım olaylarını, serbest radikal toplayıcı etkisi sayesinde koruyucu, tedavi edici özellik gösterir. UV ışınlarının hasarına karşı kuersetinin koruyucu rolü üzerine çalışma yapılmıştır. UV ışını verilen ratlarda MDA seviyelerinde anlamlı bir yükselme ve antioksidan aktivitelerinde azalma görülmüştür. Koruyucu olarak kuersetin verilen grup sadece UV verilen grupla karşılaştırıldığında antioksidan enzim seviyelerinde artış, MDA seviyesinde düşüş olduğu gözlenmiştir. Sonuç olarak UV ışınına karşı kuersetinin koruyucu rolü olduğu belirlenmiştir.

Serbest radikal toplayıcı aktivitesi olduğu bilenen kuersetin, diyabetes mellitus ile oluşan oksidatif hasarı koruyucu etkisine bakmak için yapılan çalışmada, bulgular neticesinde kuersetinin, oksidatif stresi azaltarak pankreatik β - hücre bütünlüğünde koruyucu etkisi olduğu gösterilmiştir.

Kuersetinin prostat kanserinde potansiyel koruyucu ajan olabileceği gösterilmiştir.

Kuersetin, prostat tümör hücre modelinde doza bağlı olarak apoptozu uyarmaktadır ve hücre büyümesini inhibe etmektedir. Kanser başlangıcının, ilerlemesinin ve yayılmasının engellenmesine yönelik yaklaşımlardan biri reaktif oksijen türlerinin temizlenmesidir. Besinsel

antioksidan olarak bilinen kuersetinin insan hepatoma hücrelerindeki reaktif oksijen türlerinin konsantrasyonunu azalttığı bulunmuştur.

Yapılan bir çalışmada 10 µM'de kuersetinin damar endotel hücrelerinde ve horoz spermatogonial hücrelerinde çeşitli kimyasallar ile uyarılmış oksidatif stresi inhibe ettiği gösterilmiştir.

Kuersetinin erkek üreme işlevlerine etkileri incelenmiş ve bu bileşiğin sıçanlarda sperm kalitesini artırdığı görülmüştür (Abarikwu, Pant & Farombi, 2012).

2.5.2.2. Kuersetinin Emilimi ve Atılımı

İnsanlarda önemli miktarlarda kuersetinin absorbe edildiği ve absorpsiyonun glukoz konjugasyonu ile arttığı bildirilmiştir (Burak & Çimen, 1999). Kuersetinin başlangıçta β-glikozid dizisinin kolonik mikroflar tarafından parçalanmasını takiben ince bağırsaktan absorblandığı düşünülmektedir. Hollman ve arkadaşları insan vücudunun kuersetini absorblayabileceği fakat absorpsiyonun glukozla konjugasyonla geliştirildiği sonucuna varmışlardır (Prior, 2003).

Flavonoidler ve kuersetin gıdalarda genellikle glikozid şeklinde bulunan büyük moleküllü yapılardır. Bu özelliklerinden dolayı bağırsaklarda emilmeleri zordur. Gastrointestinal sistemde serbest fenolik kısım ayrılır. Çünkü bunların bağırsaktan emilebilmesi için küçük molekül ağırlıklı formlara dönüşmeleri gerekir. Bağırsaklarda bulunan mikroorganizmalar, flavonoid glikozidlerinin çözülmesini gerçekleştirirler. Yaklaşık % 1'i bozulmadan, büyük bir kısmı ise çeşitli hidroksiaromatik asitlere dönüştürülerek böbreklerden atılır (Burak & Çimen, 1999; Nijveldt vd., 2001). Çalışmalar kuersetin ve diğer flavonoidlerin karaciğer ve dolaşıma geçmeden bağırsak epitel hücrelerinde emilimi boyunca metabolik dönüşüme neden olabileceğini göstermişlerdir (Nijveldt vd., 2001).

Kuersetinin üriner atılımı alınan miktar ve süre ile artış göstermektedir ve atılan fraksiyon % 0,29-0,47 olarak bildirilmektedir. Kuersetinin distribüsyon yarı ömrünün 3.8 saat, eliminasyon yarı ömrünün 16.8 saat olduğu bildirilmiştir. Yarı ömrü α fazı için 8.8 dk, β fazı için 2,4 saattir. % 98 oranında proteinlere bağlı olarak taşınır. Plazma seviyesi 20-40 dk'da çok azalır, 54 dk'da tespit edilemeyecek seviyeye düşer (Burak & Çimen, 1999; Middleton, Kandaswami & Theoharides, 2000; Nijveldt vd., 2001).

2.5.2.3. Kuersetinin Antioksidan Özellikleri

Kuersetinin en iyi tanımlanan özelliği antioksidan kapasiteleridir. Vücut hücreleri ve dokuları serbest radikallerin ve ROT'un neden olduğu hasara sürekli maruz kalırlar. Serbest radikallerin hücre fonksiyonları nasıl etkilediği tam bilinmemekle beraber en önemli sebeplerden biri hücre membran hasarı ile sonuçlanan lipid peroksidasyonudur. Bu hücre hasarı hücrenin dengesinde bozulmaya, osmotik basınç değişikliğine, hücre şişmesine ve sonuçta hücrenin ölmesine neden olurlar. Serbest radikaller genel inflamatuvar cevap ve doku hasarına neden olan inflamatuvar mediatörleri arttırır. Yaşayan organizmalar ROT'dan korunmak için çeşitli mekanizmalar geliştirmişlerdir. Vücudun antioksidan savunma mekanizmasını içeren SOD, CAT, GSH-Px, gibi enzimler, GSH, Vit C ve α -tokoferol gibi nonenzimatik antioksidanlar mevcuttur. ROT'un hasar esnasında artmış endojen süpürücü bileşikler ile aditif etkiye sahiptir. Flavonoidler serbest radikal üretimini engelleyebilir ve endojen antioksidanların fonksiyonunu arttırabilirler (Kühnau, 1976; Murota & Terao, 2003).

Kuersetin serbest radikallerin neden olduğu hasarları çeşitli yollarla önler.

Direkt serbest radikal süpürücüsü olarak kuersetin ROT bileşikleriyle reaksiyona girerek onları stabilize eder. Kuersetindeki hidroksil grubunun yüksek reaktivitesinden dolayı radikaller aşağıdaki reaksiyona göre inaktive olurlar (Kühnau, 1976; Murota & Terao, 2003).



Kuersetin içeren çeşitli flavonoidler iskemi reperfüzyon hasarını indükleyebilen nitrik-oksit sentaz (iNOS) aktivitesine müdahale ederek azaltırlar. NO endotelial hücre ve makrofajları da içeren çeşitli hücrelerde üretilir. NO salınımı kan damarlarındaki genişlemenin devamı için gereklidir. Yüksek konsantrasyonda NO üretimi oksidatif hasar sonucu makrofajlardaki indüklenebilen NO sentazın etkisi ile olur. Aktive makrofajlarda eşzamanlı olarak hem NO hem de süperoksit anyonu artar. NO serbest radikallerle reaksiyona girer ve oldukça hasar verici peroksinitrit oluşur. Peroksinitrit LDL'yi direk okside eder ve hücre membranında irreversible hasar oluşur. Flavonoidler antioksidan olarak kullanıldığında serbest radikaller temizlenir ve bundan dolayı NO ile reaksiyona giremezler ve daha az hasar oluşur. İlginç olarak NO kendi başına radikal olarak davranır ve NO moleküllerinin flavonoidler tarafından direk olarak temizlendiği rapor edilmiştir (Kandaswami & Middleton, 1994).

Ksantin oksidaz yolu oksidatif yolda özellikle iskemi reperfüzyon hasarında önemlidir. Hem ksantin dehidrogenaz hemde ksantin oksidaz ksantini ürik aside çevirir. Enzimin fizyolojik durumlardaki formu ksantin

dehidrogenaz, iskemi durumundaki formu ise ksantin oksidazdır. Ksantin oksidaz ROT'un kaynağıdır. Reperfüzyon fazında ksantin oksidaz moleküler oksijenle reaksiyon verir ve süperoksit radikali oluşur. Kuersetin, ksantin oksidaz aktivitesini inhibe eder ve oksidatif hasarı azaltır (Ogeturk vd., 2005).

Antioksidan özelliğinden dolayı kuersetinin vasküler sistemde de önemli etkileri mevcuttur. Oksijen radikalleri okside LDL oluşumuna neden olur ve bu endotelial duvarda hasara neden olarak arterosklerotik değişiklikleri başlatır. (Kahraman, Serteser & Köken, 2002; Kühnau, 1976).

Siklooksijenaz ve lipooksijenaz inflamatuvar mediatörler olarak rol oynar. Bunlar genel inflamatuvar cevabı başlatan araşidonik asitin salınımına neden olurlar. Lipooksijenazı içeren nötrofiller araşidonik asitten kemotaktik bileşiklerin oluşumuna neden olurlar, aynı zamanda sitokin salınımını sağlarlar. Kuersetin hem siklooksijenazı hem de lipooksijenazı inhibe eder (antiinflamatuvar etki). Bu nedenle inflamatuvar metabolitlerin oluşumunu azaltır. Flavonoidlerin bir diğer inflamatuvar etkisi eikasonoid biyosentezini inhibe etmesidir (Kühnau, 1976; Murota & Terao, 2003). Reaktif oksijen türleri DNA'ya zarar verebilir ve mutasyona neden olabilirler. Eğer değişiklikler onkogen veya tümör supresör gen gibi kritik genlerde ortaya çıkarsa başlangıç veya progresyonla sonuçlanır. ROT direkt hücre iletimini ve büyümesini etkiler. Reaktif oksijen ürünlerinin sebep olduğu hücresel hasar mitozu indükleyebilir ve hasarlı DNA da mutasyona neden olabilirler. Kuersetin, melanoma büyümesini inhibe etmekte ve farelerde potansiyel metastetik ve antitümör etki göstermiştir (Kandaswami & Middleton, 1994).

Kuersetin, kaempferol ve myricetin gibi bazı flavonoidlerin köpekler ve maymunlarda platelet agregasyonunun da etkili inhibitör olduğunu (antitrombojenik etki) gösterilmiştir (Kahraman vd., Kandaswami & Middleton, 1994,).

Serbest radikal hasarının neden olduğu kanser, inflamasyon, artrit, alerjiler ve gut gibi hastalıklarda kuersetinin etkisini inceleyen çok sayıda çalışma yapılmıştır (Kandaswami & Middleton, 1994; Nijveldt vd., 2001).

Kuersetin kanserli hücrelere besin ve oksijen akışını engelleyerek etkili bir şekilde kanseri önlemeye yardımcı olur. Laboratuvar çalışmaları kuersetinin yüzde elliye kadar meme kanseri hücrelerinin büyüme hızını azalttığını göstermiştir. Buna ek olarak, kuersetin kolon, prostat, meme ve akciğer kanseri hücrelerinin büyümesini engellediği hayvan çalışmalarda gösterilmiştir (Richter, Ebermann & Marian, 1999).

Kuersetin, arterlerde makrofajların birikimi önleyerek kalp hastalığı riskini azaltmaya yardımcı olur. Makrofajlar plak içinde sertleşmeye ve damarların tıkanmasına yol açan büyük miktarda kolesterol içerir. Buna ek

olarak kuersetin, vücutta kılcalları güçlendirerek dolaşımını artırır ve katarakt, diyabetik retinopati gibi gözlere iletilen kanın zayıflatılmasıyla ortaya çıkan rahatsızlıkların tedavisinde de kullanılır (Xing, Chen, Mitchell & Young, 2001).

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

Çalışmamızın yazımı sırasında kullandığımız biyolojik ve tıp terimlerinin yazımı ve Türkçeleştirilmesinde Histoloji ve Embriyoloji Terimleri Sözlüğü kullanılmıştır (Güven & Tekelioğlu, 2004).

3.1. Deney Hayvanları

Çalışmamızda, 4 aylık, 250-300 g ağırlığında, toplam yirmi sekiz adet, Spraque-Dawley ırkı erkek sıçan kullanıldı. Hayvanlar on iki saat aydınlık on iki saat karanlık ortamda anabilim dalımız hayvan odasında, uygun kafesler içinde barındırılarak serbestçe beslenmeleri ve su içmeleri sağlandı. Çalışmamızda yapılan tüm işlemler Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından 342/2013 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Deney hayvanları, her bir grupta 7 adet sıçan olacak şekilde Kontrol, Karbon tetraklorür, Kuersetin ve Karbon tetraklorür+Kuersetin grubu olarak 4 gruba ayrıldı.

1) Kontrol grubu: Bu grubu oluşturan erkek sıçanlara, 7 gün boyunca günde 1 kez sıçanların vücut ağırlıklarına göre (ortalama 300 gramlık hayvana 2 ml olacak şekilde) hacmi hesaplanarak belirlenen dozda zeytinyağı i.p. olarak verildi (Sangai & Verma, 2012)

2) Karbon tetraklorür grubu: Bu grubu oluşturan erkek sıçanlara, 7 gün boyunca günde 1 kez zeytinyağında çözülmüş karbon tetraklorür 0.5 ml/kg CCl₄ i.p. olarak verildi (Manjrekar vd., 2008)

3) Kuersetin grubu: Bu grubu oluşturan erkek sıçanlara, 7 gün boyunca günde 1 kez, 20 mg/kg kuersetin i.p. olarak verildi (Nabavi, S.F., Moghaddam, Nabavi S.M. & Eslami, 2011; Sangai & Verma, 2012)

4) Karbon tetraklorür + Kuersetin grubu: Bu grubu oluşturan erkek sıçanlara, 7 gün boyunca günde 1 kez 20 mg/kg kuersetin ve 7 gün boyunca günde 1 kez karbon tetraklorür 0.5 ml/kg i.p. olarak verildi (Manjrekar vd., 2008; Nabavi, S.F., Moghaddam, Nabavi S.M. & Eslami, 2011; Sangai & Verma, 2012)

3.2. Kimyasallar

Karbon tetraklorür, Merck firmasından %99.8 saflıkta temin edilmiştir. Kuersetin olarak, Sygma Aldrich firmasından Quercetin $\geq 95\%$ (HPLC), solid isimli ürün kullanılmıştır.

3.3. Vücut Ağırlıklarının Ölçümü

Deney başından itibaren hayvanların vücut ağırlıkları uygulanacak madde dozlarını belirlemek üzere günlük olarak tartıldı. Deney sonunda ağırlıkları tartılarak kaydedildi.

3.4. Bouin Çözeltisinin Hazırlanması

Dokuların tespitinde kullanılacak Bouin çözeltisi aşağıdaki şekilde hazırlandı;

- Doymuş pikrik asit çözeltisi 75 ml
- Formaldehit (% 40) 25 ml
- Glasiyal asetik asit 5 ml

Molekül ağırlığı kadar tartılan pikrik asit (12.2 g) 1000 ml saf su içerisinde çözüldü. İyice çözdürülmesine dikkat edilerek gerekli miktarda pikrik asit kullanıldı. Çözelti kullanılmadan önce süzüldü. Bouin çözeltisini hazırlamak için önce doymuş pikrik asit çözeltisi ile formaldehit karıştırıldı, daha sonra üzerine yavaşça glasiyal asetik asit ilave edilerek çözelti karıştırıldı.

3.5. Dokuların Alınması

Hayvanlar 7. günün sonunda vücut ağırlıkları ve testis ağırlıkları ölçülüp kaydedildikten sonra ketamin (ketalar 90 mg/kg)+ksilazin (alfazyne 10 mg/kg) i.p. olarak verilerek anestezi edildi ve servikal dislokasyon ile öldürüldü. Hayvanların karın bölgesi açılarak testisleri çıkarıldı.

3.6. Testis Ağırlıklarının Ölçümü

Çevre dokularından iyice temizlenen testislerin her biri Ohaus (Adventurer Pro AV264C) marka hassas terazi ile tartıldı. Testis ağırlıkları her sıçan için ayrı ayrı sağ ve sol olmak üzere tartılarak kaydedildikten sonra, sol testisler Bouin çözeltisine ve sağ testisler ise %10'luk formaldehit içerisine alındı.

3.7. Işık Mikroskobu İçin Dokuların Hazırlanması

Çıkarılan sol testislerin üzerine Bouin çözeltisi, sağ testislerin üzerine ise %10'luk formaldehit döküldükten sonra testislerin uzun eksenlerine dik olacak şekilde enjektör ucu ile testislerin kapsüllerine karşılıklı birkaç delik açıldı. Fiksatif içerisindeki testis dokuları sertleştikten sonra testisler enine olacak şekilde önce ortadan iki eşit parçaya ve daha sonra bu parçalar da yeniden ikiye bölünerek kasetlere alındı ve etiketlenerek kodlandı. Dokular Bouin fiksatifi içinde 48 saat bekletildi ve daha sonra rutin doku takibi işlemi uygulanarak her hayvana ait parafin bloklar hazırlandı. Her testisten iki blok elde edildi.

Parafin bloklar hazırlamak için kullanılan doku takip yönteminin basamakları Tablo 3.1' de gösterilmiştir.

Tablo 3.1. Doku takip yöntemine ait süreler

Kimyasal	Uygulama süresi (saat)
Bouin Çözeltisi	48
%70 Alkol	1
%80 Alkol	1
%90 Alkol	1
%96 Alkol I	1
%96 Alkol II	1
%100 Alkol	30 dk
Ksilol I	10 dk
Ksilol II	10 dk
%50 Parafin - %50 Ksilol	30 dk
Parafin I	45 dk
Parafin II	1
Parafin III	1
Bloklama	

3.8. Periyodik Asit-Schiff+Hematoksilen (PAS+H) boyasının hazırlanışı

Kesitlerin boyanmasında kullanılacak boya solüsyonu aşağıdaki şekilde hazırlandı:

- A-** Periyodik asit 1 g
Distile su 200 ml
- B-** Schiff çözeltisi
Bazik fuksin 1 g
Distile su 200 ml

C- Potasyum Metabisülfid ($K_2S_2O_5$) 2 g

D- Hidroklorik asit (HCl) 2 ml

E- Aktif kömür 2 g

Schiff çözeltisi boyama yapılmadan bir gün önce hazırlandı. Periyodik asit saf suda çözdürüldü ve kaynatıldı. Kaynatılan çözeltiye bazik fuksin eklenerek karıştırıldı ve $50^{\circ}C$ ' ye kadar soğutuldu. Daha sonra 2 g potasyum metabisülfid eklenerek karıştırıldı. Oda sıcaklığına geldiğinde 2 ml hidroklorik asit eklenerek karıştırıldı ve 2 g aktif kömür eklenip yeniden karıştırıldıktan sonra karanlık ortamda oda sıcaklığında bir gece bekletildi. Çözelti kullanılmadan önce süzüldü.

3.9. Kesitlerin Alınması ve Boyanması

Her bloktan $60\ \mu m$ trim aralığı ile $3\ \mu m$ kalınlığında seri kesitler alındı. Her lam üzerinde 2 kesit olacak şekilde ve kesitin alınma sırasına göre lamlar numaralandı. Her bloktan alınan $3\ \mu m$ kalınlığındaki seri kesitlerden oluşan 2 adet lam ışık mikroskopunda inceleme için Hemotoksilen-Eozin (H-E) ve Periyodik Asit Schiff (PAS)+Hematoksilen (H) ile boyandı.

Boyama yönteminin basamakları ve uygulama süreleri aşağıda gösterilmiştir (Tablo 3.2.), (Tablo 3.3.).

Tablo 3.2. Hematoksilen & Eozin boyama yöntemi basamakları süreleri

<u>Kimyasal madde</u>	<u>Uygulama süresi (dk)</u>
Ksilol I	15
Ksilol II	15
%96 Alkol I	5
%96 Alkol II	5
%90 Alkol	5
%80 Alkol	5
%70 Alkol	5
Distile Su	5
Hematoksilen	1
Çeşme suyunda yıkama	Suyun rengi şeffaf olana kadar
Eozin	5
%70 Alkol	2
%80 Alkol	2
%90 Alkol	2
%96 Alkol I	2
%96 Alkol II	2
Ksilol I	5
Ksilol II	5
Lamların kapatılması	

Tablo 3.3. PAS+H boyama yöntemi basamakları süreleri

<u>Kimyasal madde</u>	<u>Uygulama süresi (dk)</u>
Ksilol I	20
Ksilol II	20
%96 Alkol I	2
%96 Alkol II	3
%90 Alkol	3
%80 Alkol	3
%70 Alkol	3
Saf su	1
Periyodik asit	5
Saf Su	2
Schiff çözeltisi	15
Çeşme suyu	2
Hematoksilen	1,5
Çeşme suyu	2
%70 Alkol	2
%80 Alkol	2
%90 Alkol	2
%96 Alkol I	2
%96 Alkol II	2
Ksilol I	5
Ksilol II	5
Lamların kapatılması	

3.10. Histolojik Değerlendirme

PAS+H ve H-E yöntemi ile boyanan kesitler histolojik değerlendirme için DP 70 dijital kamera ile donatılmış Olympus BX51 ışık mikroskopunda (Olympus Corp. Tokyo, Japonya) incelenerek grupları temsil eden görüntüler elde edildi.

Kesitler incelenirken, interstisyel alanlar, seminifer tübüller, Leydig hücre hasarı, seminifer tübül hasarı dikkate alınarak değerlendirme yapıldı.

3.11. İstatistiksel Analiz

Tüm veri analizleri SPSS 21.0 paket programları ile yapılmıştır. Sürekli nicel veriler; n, ortalama ve standart sapma olarak ifade edilmiştir. Bağımlı ve bağımsız gruplarda oluşan ve normal dağılım gösteren sürekli verilere, Paired Samples T Test ve One Way Anova testleri ile analiz edilmiştir. $P < 0.05$ olasılık değerleri anlamlı olarak kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. İstatistiksel Bulgular

4.1.1. Gruplara göre vücut ağırlıkları karşılaştırması

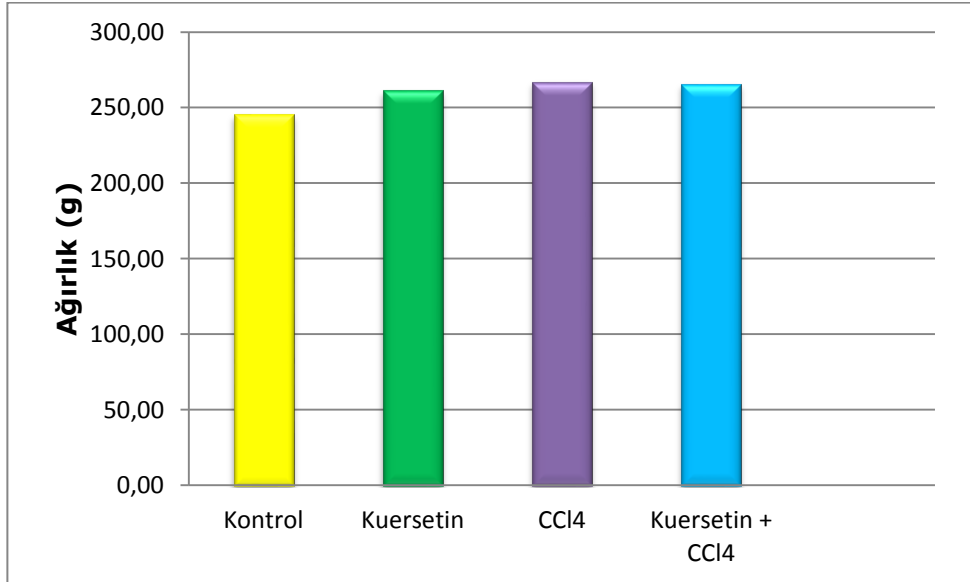
Çalışmamızda hayvanların ilk ölçülen vücut ağırlıklarına ilişkin bulguları Tablo 4.1 ve Şekil 4.1' da verilmiştir.

Hayvanların ilk ağırlıklarının istatistiksel olarak karşılaştırılması sonucunda gruplar arasında önemli bir fark saptanmamıştır ($p > 0,05$) (Şekil 4.1) .

Tablo 4.1. Gruplara göre ilk ağırlık - son ağırlık karşılaştırması

	Gruplar	Ortalama	±Standart Sapma	p değeri
İlk Ağırlık	KONTROL	245,71	35,98942	p=0,685 ^{ns}
	KUERSETİN	261,42	30,78342	
	CCl ₄	267,14	44,23961	
	CCl ₄ + KUERSETİN	265,71	34,57222	
Son Ağırlık	KONTROL	275,43	32,66934	p=0,301 ^{ns}
	KUERSETİN	280,42	34,47152	
	CCl ₄	257,71	54,01146	
	CCl ₄ + KUERSETİN	244,86	25,60227	

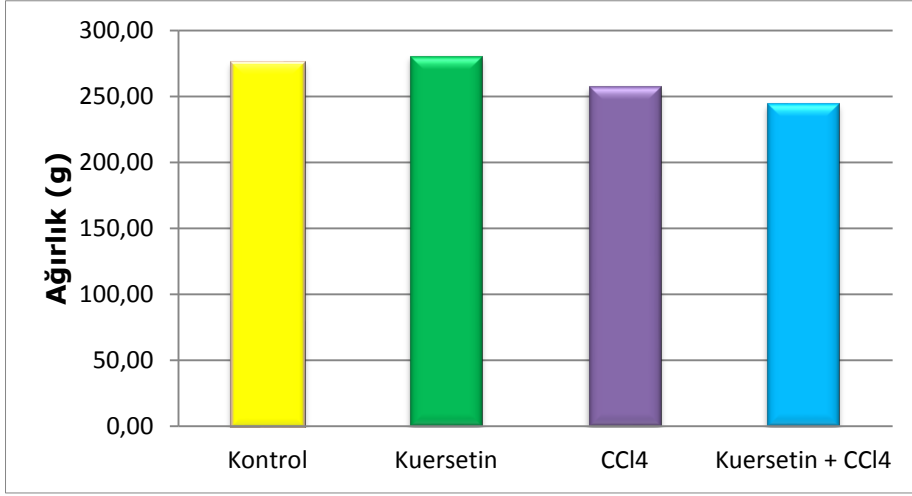
One Way Anova (*p<0,05 **p<0.01 ***p<0.001 NS: Anlamli değil)



Şekil 4.1. Gruplar arası ilk ağırlık kıyaslaması

Gruplara göre deney sonu vücut ağırlığı farkı karşılaştırıldığında kontrol grubuna göre CCl₄ ve CCl₄+kuersetin grubunda vücut ağırlığı

farkında düşüş olmuştur ancak bu düşüşler istatistiksel olarak anlamlı olmamıştır ($P>0.05$) (Şekil 4.2), (Tablo 4.1).



Şekil 4.2. Gruplar arası son ağırlık kıyaslaması

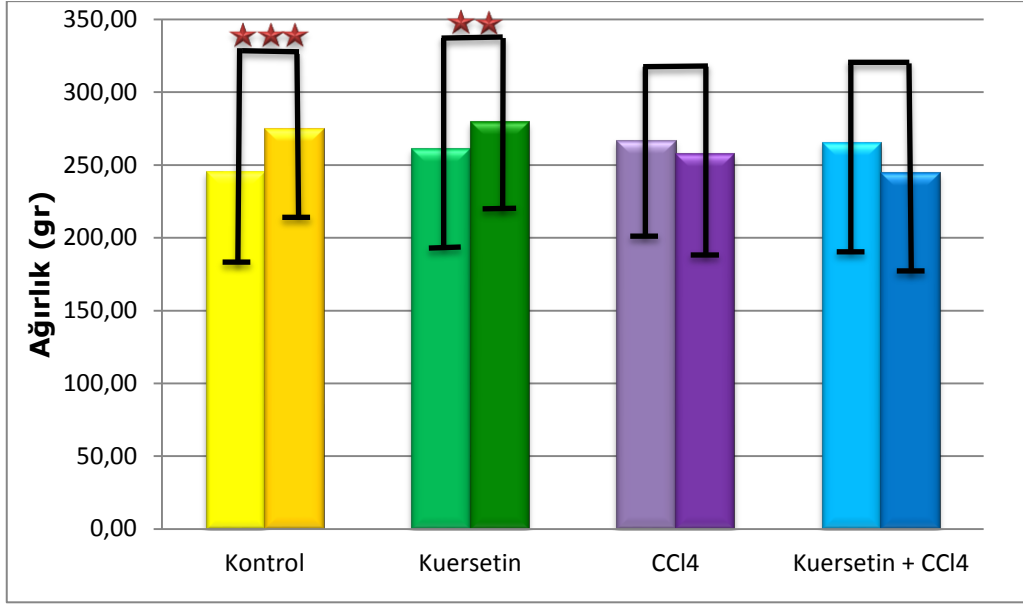
4.1.2. Deney Öncesi ve Deney Sonrası Ağırlık Kıyaslaması:

Gruplar arası deney öncesi ağırlık ile deney sonrası ağırlık kıyaslandığında kontrol grubu ve Kuersetin grubunda önemli düzeyde bir farklılık görülmüştür (Kontrol grubu $p<0,001^{***}$, Kuersetin grubu $p=0.007^{**}$) CCl₄ ve CCl₄ +Kuersetin grubu deney öncesi ve deney sonrası ağırlıkları kıyaslandığında vücut ağırlığında azalma olmuştur fakat anlamlı değildir (CCl₄ $p=0.136^{ns}$, CCl₄ + Kuersetin $p=0.077^{ns}$) (Tablo 4.2) (Şekil 4.3).

Tablo 4.2. Deney öncesi deney sonrası ağırlık kıyaslaması

GRUPLAR	Deney öncesi ağırlık		Deney sonrası ağırlık		p
	Ortalama	Standart sapma	Ortalama	Standart sapma	
KONTROL	245,7143	35,98942	275,4286	32,66934	$p<0.001^{***}$
CCl ₄	261,4286	30,78342	280,4286	34,47152	$p= 0.007^{**}$
KUERSETİN	267,1429	44,23961	257,7143	54,01146	$p= 0.136$
CCl ₄ +KUERSETİN	265,7143	34,57222	244,8571	25,60227	$p= 0.077$

(t testi) (* $p<0,05$ ** $p<0.01$ *** $p<0.001$ NS: Anlamlı değil)



(*p<0,05 **p<0.01 ***p<0.001)

Şekil 4.3. Deney öncesi deney sonrası ağırlık kıyaslaması

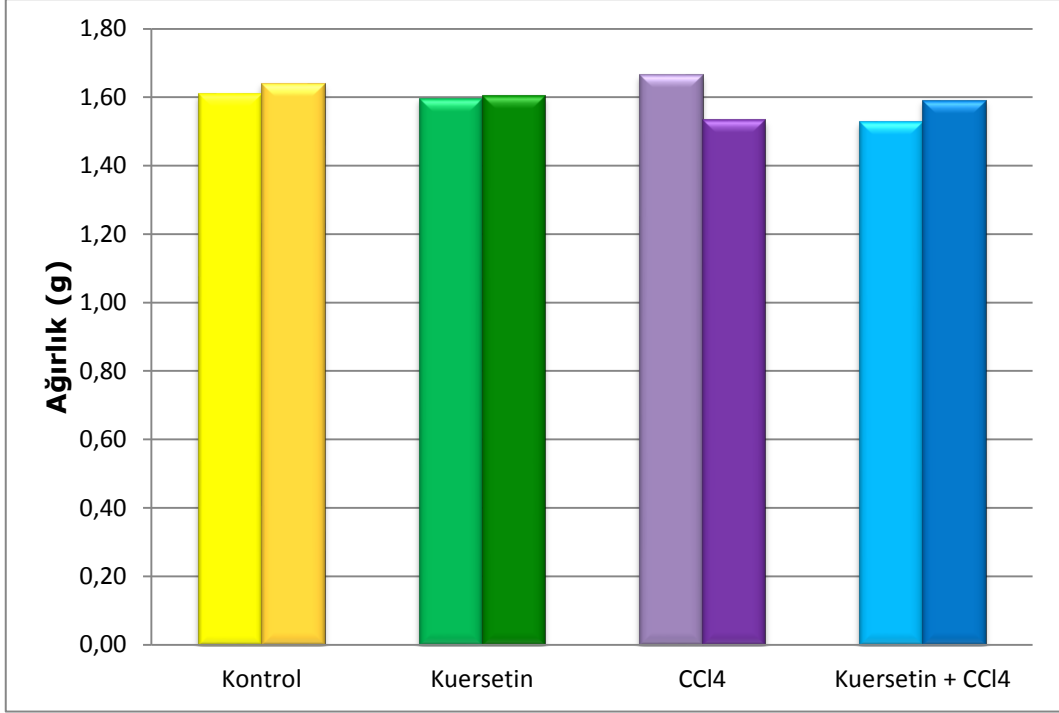
4.1.3. Deney sonrası testis ağırlık kıyaslaması:

Gruplar arasında sağ ve sol testis ağırlıkları istatistiksel olarak değerlendirildiğinde bir fark olmadığı gözlenmiştir. Kontrol grubunda ve CCl₄ grubunda bir farklılık gözüküyor olsa da anlamlı bir fark olmadığı görülmüştür (Tablo 4.3),(Şekil 4.4).

Tablo 4.3. Sağ testis - sol testis ağırlık karşılaştırması

	Gruplar	Ortalama	Standart sapma	p
Sağ Testis	KONTROL	1,641429	0,240654	p=0,736 ^{ns}
	KUERSETİN	1,604286	0,075246	
	CCL ₄	1,535714	0,166118	
	KUERSETİN+CCL ₄	1,591429	0,186675	
Sol Testis	KONTROL	1,611429	0,227261	p=0,743 ^{ns}
	KUERSETİN	1,597143	0,099115	
	CCL ₄	1,665714	0,32761	
	KUERSETİN+CCL ₄	1,53	0,20232	

One Way Anova (*p<0,05 **p<0.01 ***p<0.001 NS: Anlamlı değil)



- Sağdaki sütunlar sağ testisi, soldaki sütunlar ise sol testisi göstermektedir.

Şekil 4.4. Sağ testis sol testis ağırlık kıyaslaması

Sağ ve sol testisler arasında istatistiksel fark bulunmadı (Tüm gruplarda $p > 0.05$).

4.2. Histolojik Bulgular

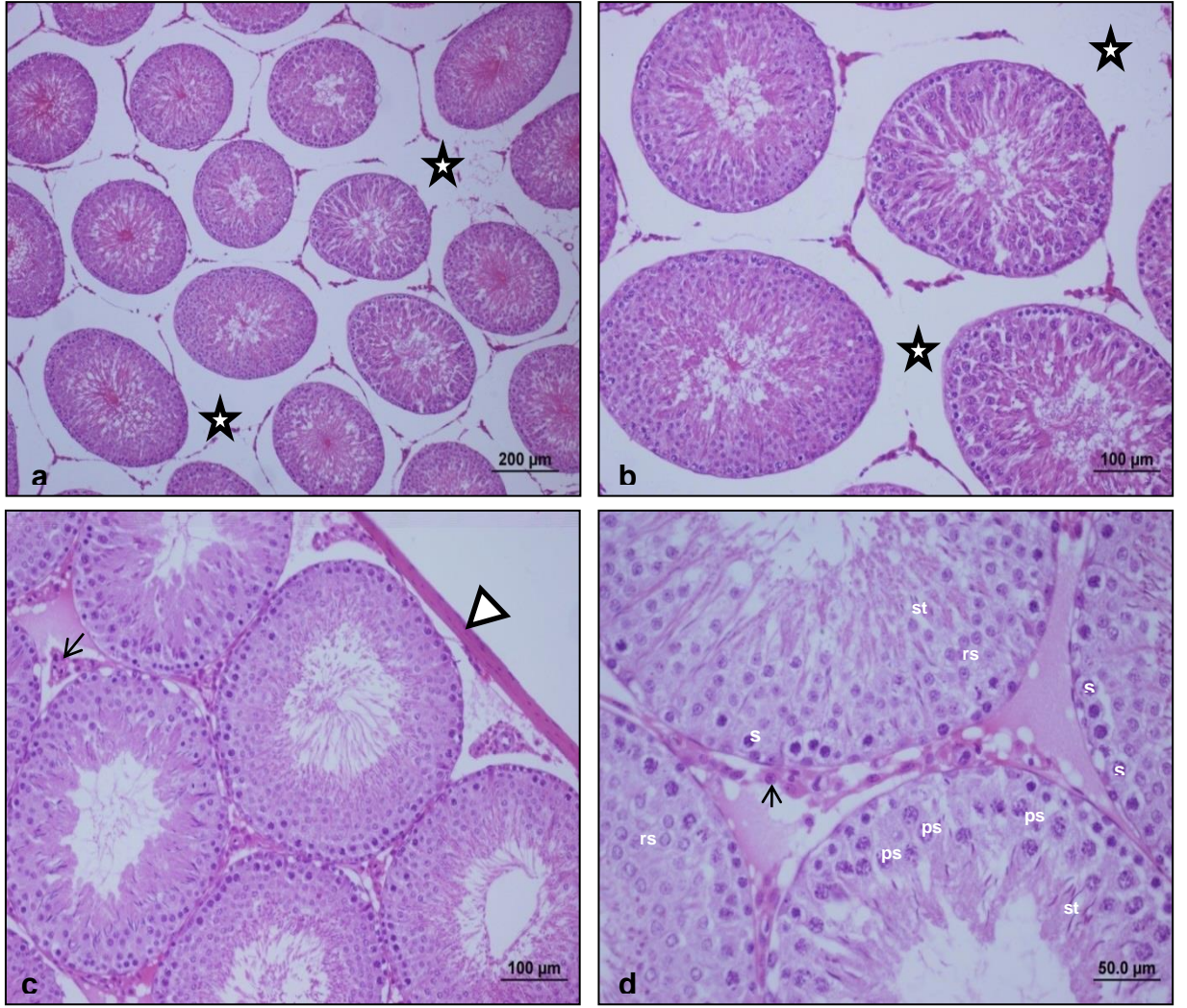
Işık mikroskopik olarak kontrol ve deney gruplarını oluşturan sıçan testislerinin genel görünümü saptamak için Hematoksilen-Eozin (H-E), Periyodik Asit Schiff (PAS) + Hematoksilen (H) boyası uygulanmıştır.

4.2.1. Kontrol Grubu: Kontrol grubunu oluşturan sıçan testis örneklerinin ışık mikroskopik incelemeleri sonucunda, seminifer tübüller ve tübül duvarındaki spermatogenik hücre serileri, spermatogonyum, primer spermatozoid ve spermatozoid, Sertoli hücresi ve tübüllerde devam eden spermatogenez normal yapıda görüldü. İnterstisyel alan ve Leydig hücreleri normal yapıda gözlemlendi (Şekil 4.5). PAS+H ile boyadığımız testis örneklerinde PAS pozitif boyanmış bazal membran ve tunika albuginea yapısı normal yapıda gözlemlendi (Şekil 4.6).

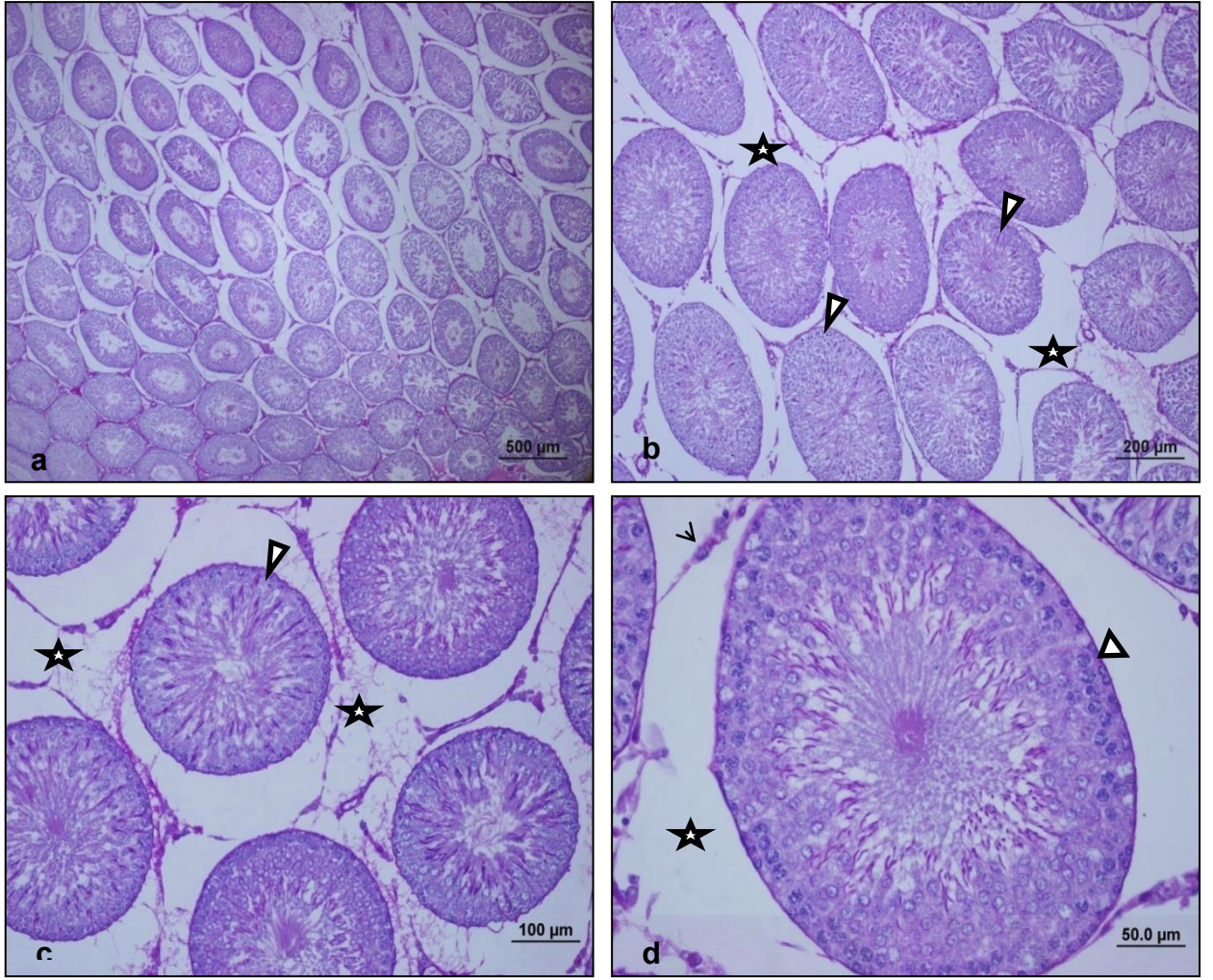
4.2.2. CCl₄ Grubu: CCl₄ grubuna oluşturulan testis örneklerinin ışık mikroskopundaki incelemeler sonucunda, seminifer tübül duvarındaki spermatogenik hücrelerde dejeneratif değişiklikler ve hücresel kayıplar ile birlikte yoğun tübüller hasar ve bazı tübüllerde atrofi görüldü (Şekil 4.7-4.9). İnterstisyel alanda ise ayrılmalar ve ödem ile damar kongestiyonu dikkat çekti (Şekil 4.7b, 4.8c). Ayrıca tübül duvarından ayrılmış bazal membran yapısı gözlemlendi (Şekil 4.7d). Buna ek olarak PAS+H ile boyanan örneklerde lümen tübül duvarından koparak ayrılmış hücre kümeleri görüldü (Şekil 4.9d).

4.2.3. Kuersetin Grubu: QE grubunu oluşturan sıçan testis örneklerinin ışık mikroskopik incelemelerinde, normale yakın yapıdaki seminifer tübülde spermatogonyumlar, primer spermatozoidler, sekonder spermatozoidler, spermatozoidler, bazal membran, interstisyel alanda Leydig hücreleri, makrofajlar ve damar yapıları kontrol grubuna benzer yapı gösterdiği gözlemlendi. Spermatogenezin normal devam ettiği ve tübül duvarı kalınlığının normal yapıda olduğu görüldü. Ayrıca normal görünümlü interstisyel alan gözlemlendi (Şekil 4.11, 4.12).

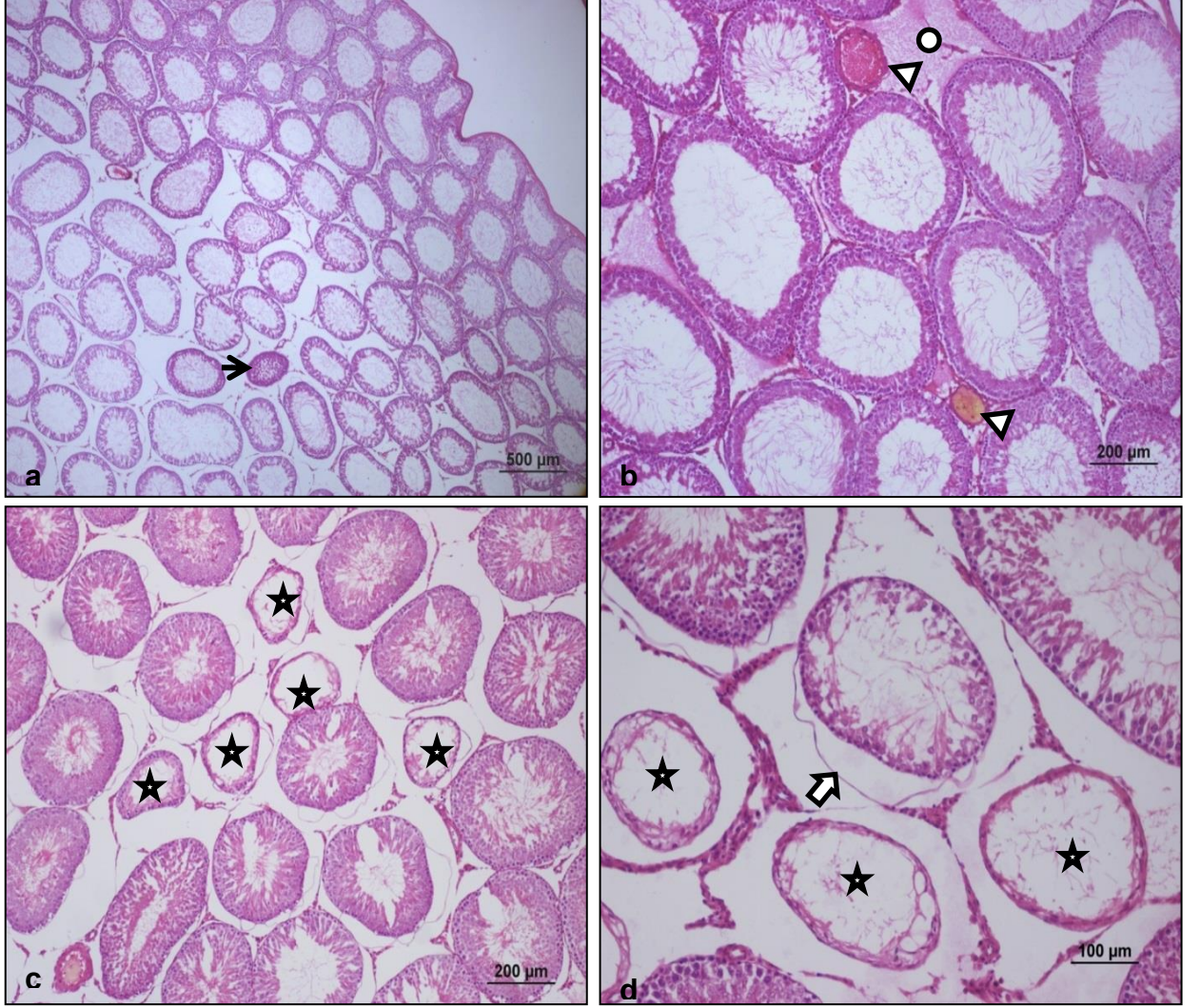
4.2.4. CCl₄ +Kuersetin Grubu : CCl₄ ile birlikte verilen QE grubunu oluşturan sıçan testis örneklerinin ışık mikroskopundaki incelemeleri sonucunda, bazı tübüllerde hasar devam etse de genellikle azalmış tübüller hasar ve normale yakın yapıdaki seminifer tübüller ile devam eden - spermatogenez izlendi. İnterstisyel alanda ise azalmış ödem ve normale yakın görünümlü Leydig hücreleri gözlemlendi. Ayrıca normale yakın yapıdaki PAS pozitif bazal membran yapısı görüldü (Şekil 4.13).



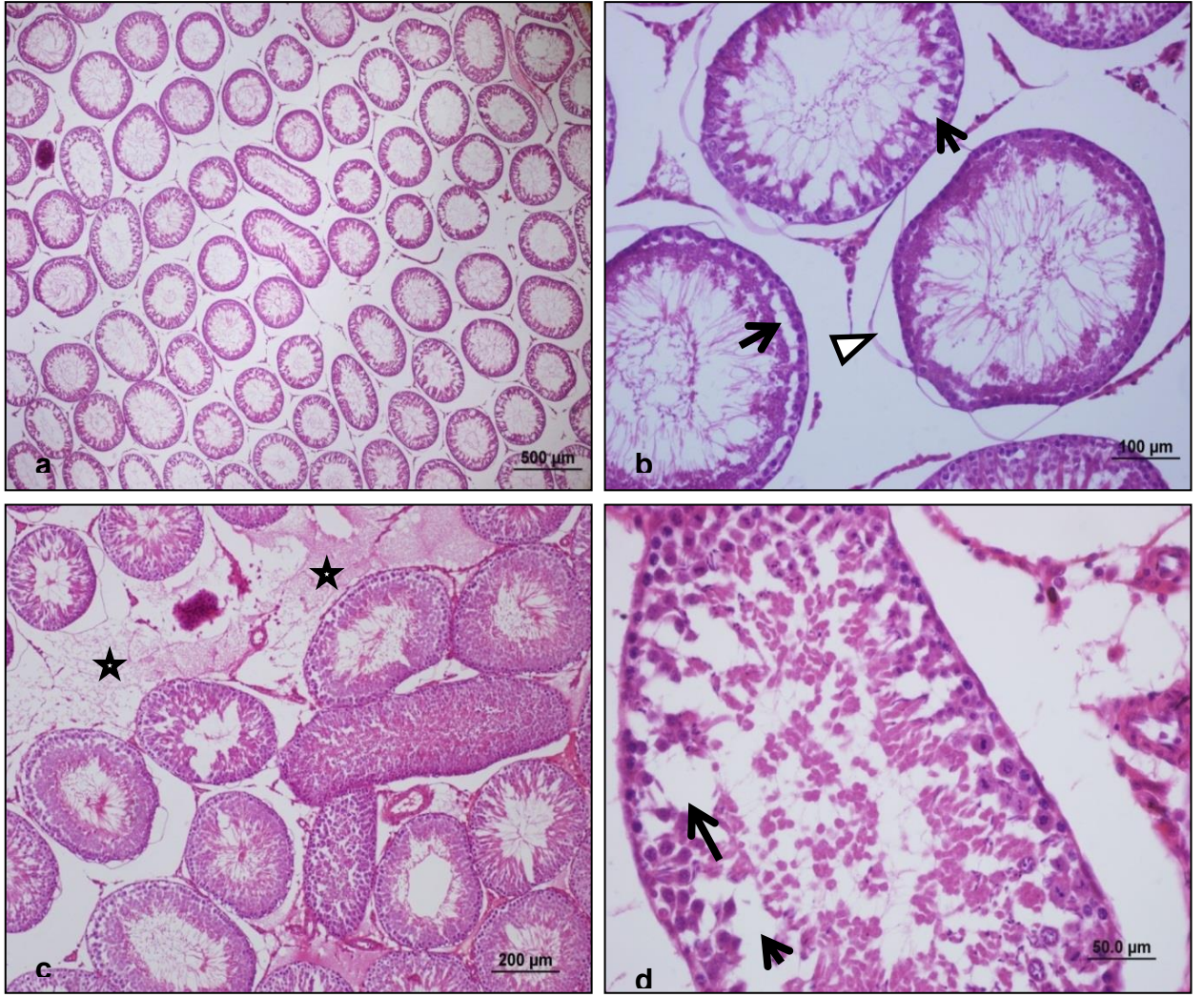
Şekil 4.5. Kontrol grubunda testis dokusunun histolojik görünümü: Kontrol grubunu oluşturan sıçan testislerinin farklı büyütmelerdeki ışık mikroskopik görüntüsü. Normal yapıdaki seminifer tübüller ve tübül duvarındaki spermatogenik hücre serileri; spermatogonyum (s), primer spermatosit (ps), spermatid hücreleri (rs-st) ve tübüllerde devam eden spermatogenez görülmekte. Normal görünümlü interstisyel alan (*) ve Leydig hücreleri (→) izlenmekte. Ayrıca normal yapıdaki tunika albuginea (▶) yapısı görülmekte (bar: 200µm, bar: 100µm, bar: 50.0µm, HE, a-d).



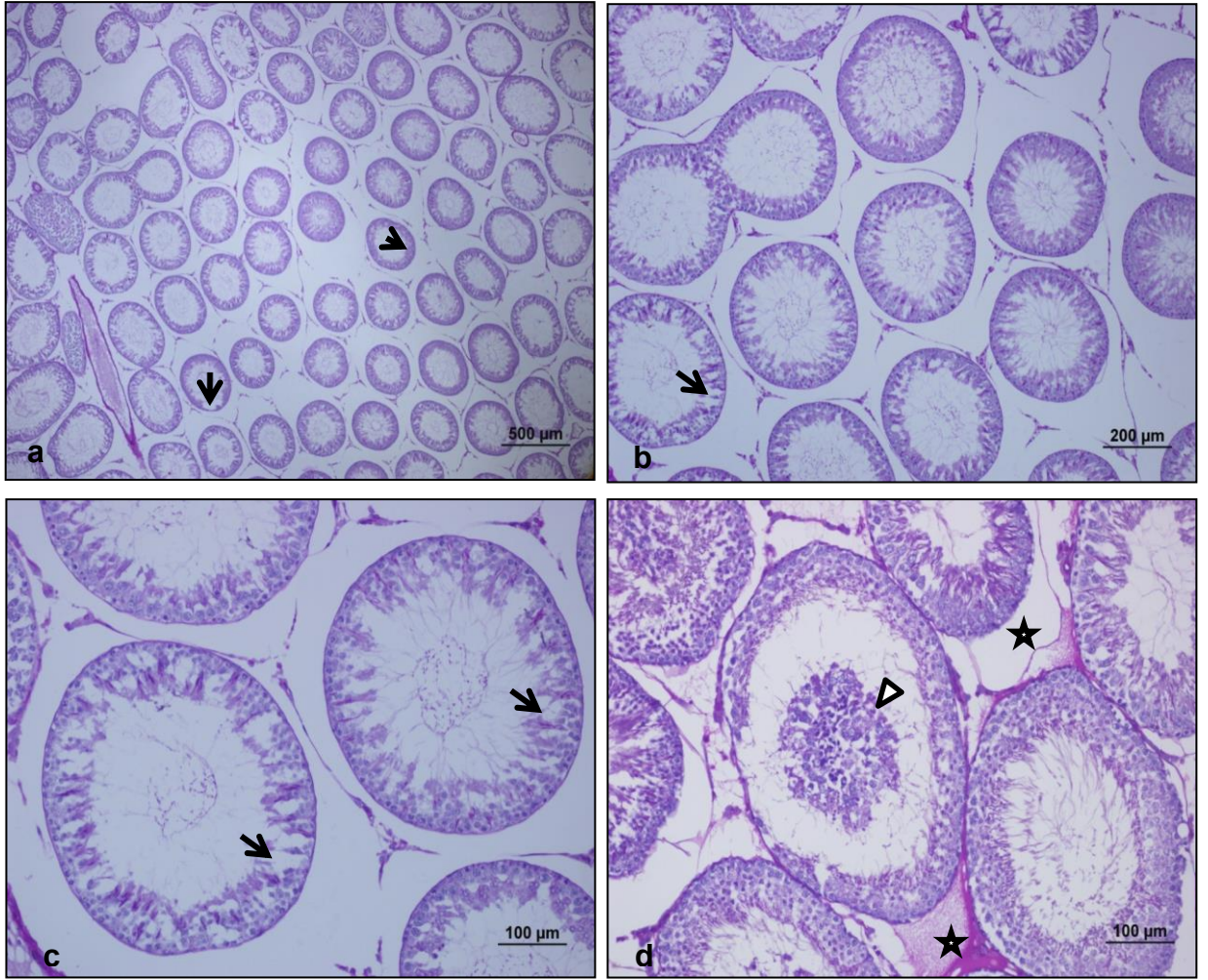
Şekil 4.6. Kontrol grubunda testis dokusunun histolojik görünümü: Kontrol grubunu oluşturan sıçan testislerinin farklı büyütmelelerdeki ışık mikroskopik görüntüsü. Normal yapıdaki seminifer tübüller ve tübül duvarındaki spermatogenik hücre serileri ile tübüllerde devam eden spermatogenez görülmekte. Normal görünümlü interstisyel alan (*) ve Leydig hücreleri (→) izlenmekte. Ayrıca normal yapıdaki PAS pozitif bazal membran yapısı (▶) görülmekte (bar: 500µm, bar: 200µm, bar: 100µm, bar: 50.0µm, PAS+HE, a-d)



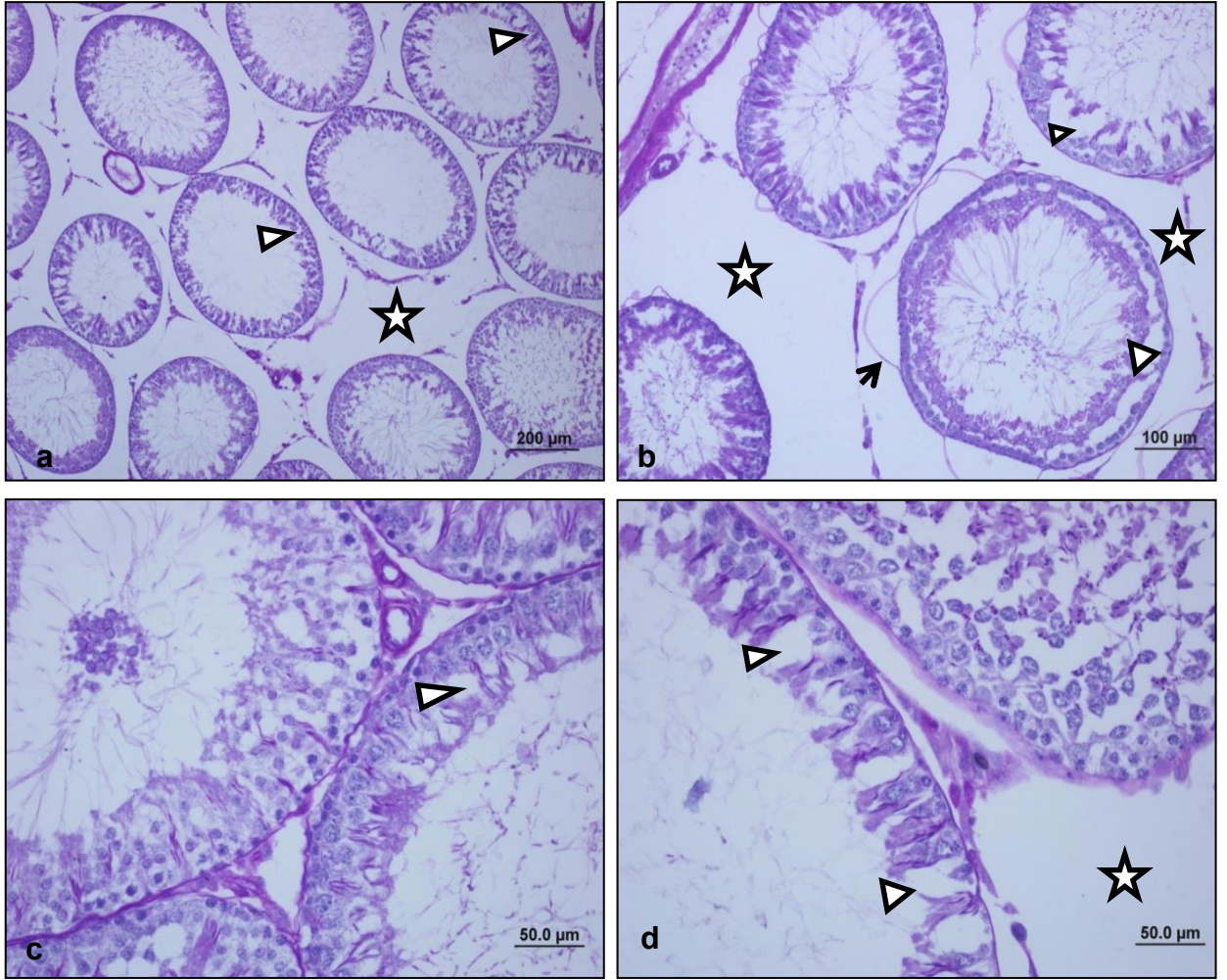
Şekil 4.7. CCl_4 grubunda testis dokusunun histolojik görünümü: CCl_4 grubunu oluşturan sıçan testislerinin farklı büyütmelelerdeki ışık mikroskopik görüntüsü. Seminifer tübül duvarındaki spermatogenik hücrelerde dejeneratif değişiklikler ve hücresel kayıplar ile birlikte yoğun tübüler hasar (*) ve bazı tübüllerde atrofi (→) görülmekte. İnterstisyel alanda ise ayrılmalar ve ödem (●) ile damar kongesyonu (▶) dikkat çekmekte. Ayrıca tübül duvarından ayrılmış bazal membran yapısı (kalın ok) görülmekte (bar: 500µm, bar: 200µm bar: 100µm, HE)(a-d).



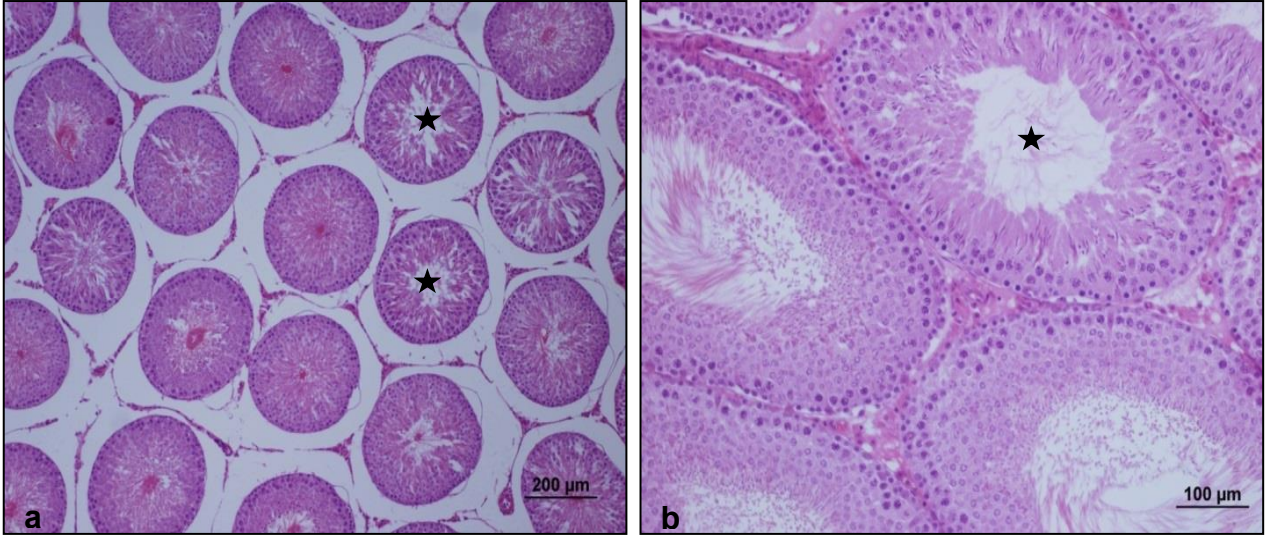
Şekil 4.8. CCl_4 grubunda testis dokusunun histolojik görünümü: CCl_4 grubunu oluşturan sıçan testislerinin farklı büyütmelelerdeki ışık mikroskopik görüntüsü. Seminifer tübül duvarındaki spermatogenik hücrelerde dejeneratif değişiklikler ve hücresel kayıplar (→) ile birlikte yoğun tübüler hasar görülmekte. İnterstisyel alanda ise ayrılmalar ve ödem (*) dikkat çekmekte. Ayrıca tübül duvarından ayrılmış bazal membran yapısı (▶) görülmekte (bar: 500µm, bar: 100µm, bar: 200µm, bar: 50.0µm, HE)(a-d).



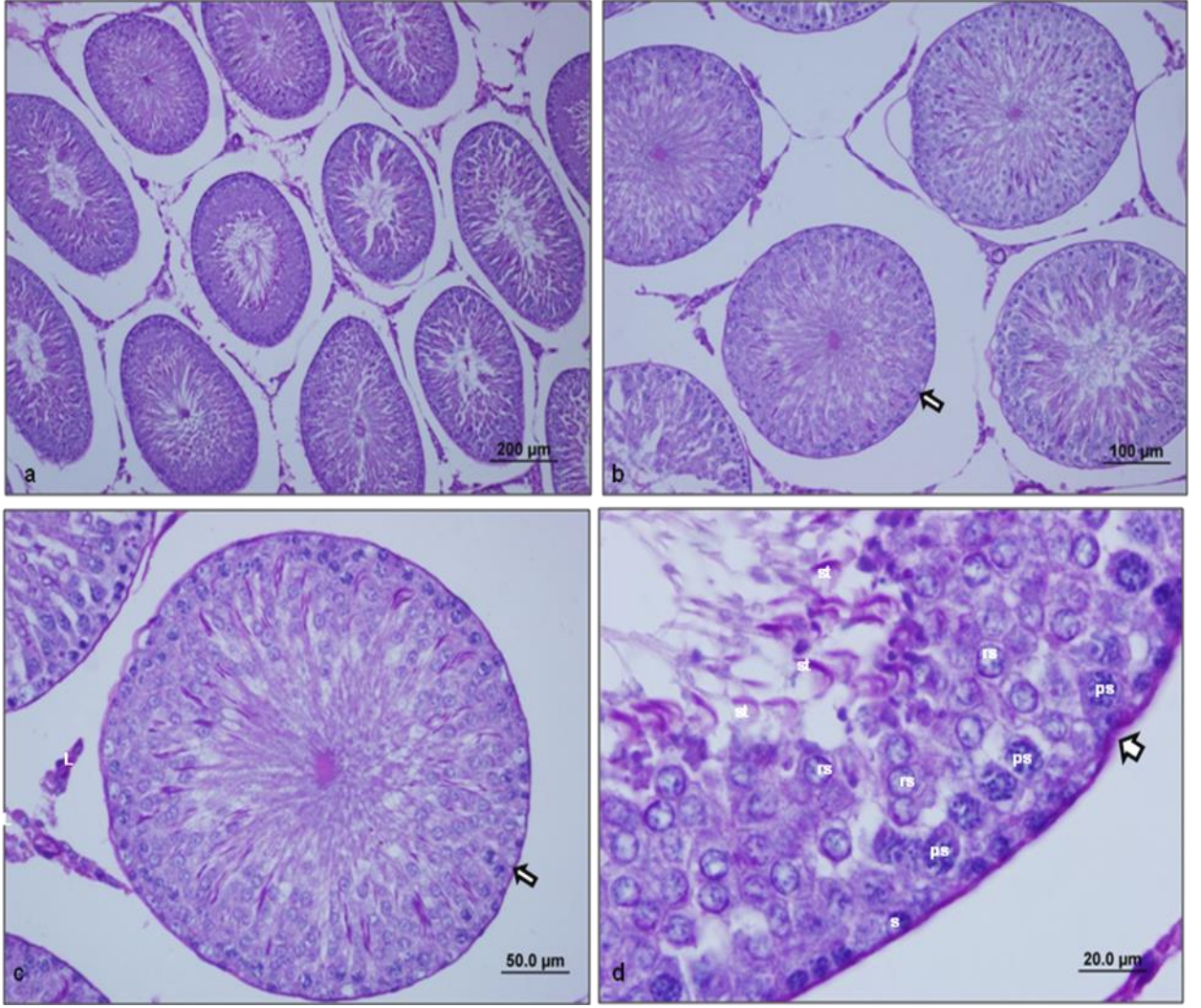
Şekil 4.9. CCl_4 grubunda testis dokusunun histolojik görünümü: CCl_4 grubunu oluşturan sıçan testislerinin farklı büyütmelelerdeki ışık mikroskopik görüntüsü. Seminifer tübül duvarındaki spermatogenik hücrelerde dejeneratif değişiklikler ve hücresel kayıplar (\rightarrow) görülmekte. Ayrıca lümende tübül duvarından koparak ayrılmış hücre kümeleri dikkat çekmekte (\blacktriangleright). İnterstisyel alanda ise ayrılmalar ve ödem (*) gözlenmekte (bar: 500 μ m, bar: 200 μ m, bar: 100 μ m, PAS+HE)(a-d).



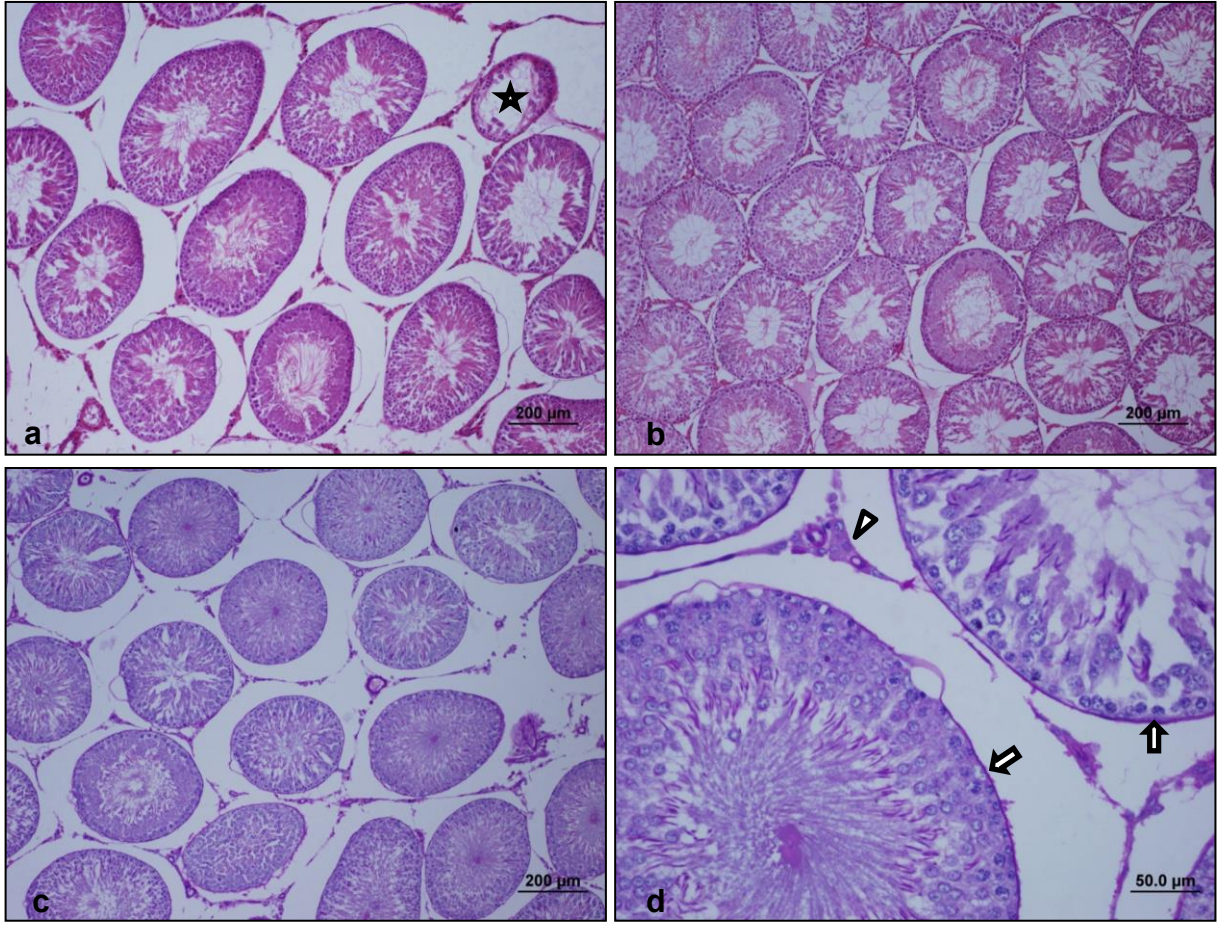
Şekil 4.10. CCl₄ grubunda testis dokusunun histolojik görünümü: CCl₄ grubunu oluşturan sıçan testislerinin farklı büyütmelelerdeki ışık mikroskopik görüntüsü. Seminifer tübül duvarındaki spermatogenik hücrelerde dejeneratif değişiklikler ve hücresel kayıplar (▶) ile birlikte yoğun tübüler hasar görülmekte. İnterstisyel alanda ise ayrılmalar (*) dikkat çekmekte. Ayrıca tübül duvarından ayrılmış PAS pozitif bazal membran yapısı (→) görülmekte (bar: 200µm, bar: 100µm, bar: 50.0µm, PAS+HE)(a-d).



Şekil 4.11. QE grubunda testis dokusunun histolojik görünümü: QE grubunu oluşturan sıçan testislerinin farklı büyütmelelerdeki ışık mikroskopik görüntüsü. Normale yakın yapıdaki seminifer tübüller ve tübül duvarındaki spermatogenik hücre serileri ile birlikte tübüllerde devam eden spermatogenez (*) görülmekte. Ayrıca normal görünümlü interstisyel alan izlenmektedir (bar: 200µm, bar: 100µm, HE, a-b).



Şekil 4.12. QE grubunda testis dokusunun histolojik görünümü: QE grubunu oluşturan sıçan testislerinin farklı büyütmelelerdeki ışık mikroskopik görüntüsü. Normale yakın yapıdaki seminifer tübüller ve tübül duvarındaki spermatogenik hücre serileri; spermatogonyum (s), primer spermatosit (ps), spermatid hücreleri (rs-st) ile tübüllerde devam eden spermatogenez görülmekte. Normale yakın görünümlü interstisyel alan ve Leydig hücreleri (L) izlenmekte. Ayrıca normal yapıdaki PAS pozitif bazal membran yapısı (→) görülmektedir (bar: 200µm, bar: 100µm, bar: 50.0µm, bar: 20.0µm, PAS+HE, a-d).



Şekil 4.13. CCl₄ +QE grubunda testis dokusunun histolojik görünümü: CCl₄ +QE grubunu oluşturan sıçan testislerinin farklı büyütmelerdeki ışık mikroskopik görüntüsü. Bazı tübüllerde hasar devam etse de (*) genellikle azalmış tübüller hasar ve normale yakın yapıdaki seminifer tübüller ile devam eden spermatogenez izlenmekte. İnterstisyel alanda ise azalmış ödem (*) ve normale yakın görünümlü Leydig hücreleri (▶) gözlenmekte. Ayrıca normale yakın yapıdaki PAS pozitif bazal membran yapısı (→) görülmekte (bar: 200µm, bar: 50.0µm, HE, a,b, PAS+HE, c-d).

5. TARTIŞMA

Karbon tetraklorür, tipik bir toksik ajandır ve toksik etkisi serbest radikal üretimi ile olmaktadır (Sanzgiri, Srivatsan, Muralidhara, Dallas & Bruckner, 1997).

Bu maddenin, dokularda hasar oluşturma mekanizması, CCl_4 'ün sitokrom P450 enzimi aracılığıyla oldukça toksik triklorometil (CCl_3) ve triklorometil peroksil (CCl_3O_2) serbest radikallerine dönüşümü sonrası başlayan lipid peroksidasyonu ile ortaya çıkan oksidatif hasar olarak açıklanmıştır. Vücutta, fizyolojik ortamda veya herhangi bir patolojik olay sonucunda oluşan serbest radikaller ile bunların koruyucusu olan antioksidan savunma sistemi arasındaki dengenin serbest radikaller lehine kayması oksidatif stresi gösterir. Organizma, oksidatif hasara karşı enzimatik ve nonenzimatik antioksidan sistem ve moleküllerle korunur.

Çevreden insan vücuduna günlük ortalama $0,1\mu g$ CCl_4 girişi olduğu tahmin edilmektedir. Birleşik Devletler Çevre Koruma Dairesi (EPA) hayvan deneylerinden elde edilen sonuçlara dayanarak CCl_4 'ü insan için olası kanserojen sınıfına (Grup B2) dahil etmiştir (Faroon vd., 2005; Thrall, Vucelick, Gies & Benson, 2000). CCl_4 solunan hava, su, gıda alımı ve deriden temas yoluyla vücuda girer. Karaciğer, beyin, böbrek, kaslar, yağ dokusu ve kanda daha yüksek konsantrasyonlarda olmak üzere tüm dokulara dağılır (Faroon vd., 2005; Rao, Mangipudy & Mehendale, 1997).

Karbon tetraklorürün başta karaciğer olmak üzere böbrek, testis, kalp, akciğer, beyin ve diğer dokularda da toksik etkisinin olduğu çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir (Kükner vd., 2010).

Deneysel olarak gerçekleştirilmiş daha önceki araştırmalarda, CCl_4 maruziyetinin testislerde oksidatif doku hasarına ve lipid peroksidasyonuna yol açtığı bildirilmiştir. Ayrıca, daha önce yapılmış olan benzer çalışmalarda, CCl_4 toksisitesine bağlı olarak testis dokusunda histopatolojik değişikliklerin de meydana geldiği ortaya konmuştur (Gülçen vd., 2012).

CCl_4 uygulamasının erkek deney hayvanlarında oksidatif toksisite ile üreme sisteminde, morfolojik, yapısal ve fonksiyonel hasara yol açtığı bildirilmiştir (Horn vd., 2006; Khan & Ahmed, 2009; Manjrekar vd., 2008; Türk, 2013) .

Çalışmamızda, CCl_4 ' e bağlı sıçan testis hasarında kuersetinin olası etkisi araştırılmıştır ve çalışmamızın sonuçlarına göre, CCl_4 'ün testisler üzerinde hasara sebep olduğu ve CCl_4 ile birlikte kuersetin verilmesi durumunda testislerdeki bu hasarın belli bir ölçüde düzelmeye sağladığı gösterilmiştir.

Türk ve arkadaşlarının sıçanlarla yaptığı 10 haftalık bir çalışmada haftada bir 0.25 ml/kg CCl₄ gavaj ile uygulanmıştır. Deney sonucuna göre vücut ve testis ağırlığında azalma görülmüştür. Sperm motilitesi ve konsantrasyonunda azalma görülürken, anormal sperm sayısında artış görülmüştür. Germinal hücrelerde dejenerasyon, interstisyel alanda ödem ve konjesyon gözlenmiştir. CCl₄, yapılan biyokimyasal çalışmalarda MDA seviyesini arttırken GSH-px ve CAT miktarlarını azaltmıştır (Türk vd., 2013). Bizim çalışmamızda da bu çalışmaya benzer sonuçlar; germinal hücre kaybı, interstisyel alanda ödem ve konjesyon gözlenmiştir.

Khan ve arkadaşlarının sıçanlarla yaptığı 16 haftalık çalışmada haftada bir 1ml/kg CCl₄ i.p olarak uygulanmıştır. Kullanılan doz ve sürede CCl₄ 'ün vücut ve testis ağırlığını azalttığı görülmüştür. Spermatogenik seri hücrelerinde dejenerasyon, bazal membran ayrılması, seminifer tübül atrofisi, interstisyel alanda genişleme ve PMNL artışı ve sperm sayısında azalma gözlenmiştir. CAT, SOD, GSH-px miktarlarını azaltmıştır. Testosteron, FSH ve LH seviyelerinde de düşüş gözlenmiştir (Khan & Ahmed, 2009). Bizim çalışmamızda ışık mikroskobu incelemelerinde bu çalışmaya paralel olarak vücut ağırlığında azalma, seminifer tübüllerde atrofi, bazal membran ayrılması, spermatogenik hücrelerde dejenerasyon görülmüştür.

Khan'ın sıçanlarla yaptığı bir çalışmada, haftada 2 kere 3ml/kg CCl₄ i.p. olarak uygulanmıştır. Testosteron, FSH ve LH seviyelerinde de düşüş gözlenmiştir. Sperm sayısı ve hareketliliğinde azalma görülmüştür. Germ hücrelerinde kayıp, anormal germinal epitel, mayozda kesinti, anormal şekilli spermiler gözlenmiştir. Seminifer tübül atrofisi, interstisyel alanda genişleme ve PMNL artışı görülmüştür. DNA fragmantasyonu görülmüştür. CAT ve SOD miktarları azalmıştır (Khan, 2012). Bu çalışmaya paralel olarak bizim çalışmamızda da germinal hücre kaybı ve seminifer tübülde atrofi görülmüştür.

Horn ve arkadaşlarının sıçanlarla yaptığı 10 haftalık bir çalışmada haftada bir 0.25 ml/kg CCl₄ gavaj ile uygulanmıştır. Bu çalışmada germ hücrelerinde kayıp, germinal epitelde vakuolizasyon, mayozun kesintiye uğraması sonucunda seminifer tübüllerde sadece Sertoli hücreleri gözlemlenmiştir (Horn vd., 2006). Yaptığımız çalışmada da germinal hücre kaybı görülmüştür.

Manjrekar ve arkadaşlarının sıçanlarla yaptığı 7 günlük bir çalışmada günlük 0.5 ml/kg CCl₄ i.p. olarak uygulanmıştır. Deney sonucuna göre, vücut ve testis ağırlığı azalmıştır. MDA değeri artmıştır. Spermatozoa sayısında azalma ve tübüllerde düzensiz yerleşim görülmüştür (Manjrekar vd., 2008). Bizim çalışmamızda da bu çalışmaya paralel olarak vücut ağırlığının ve lümen içerisinde spermatozoa sayısının azaldığı, ayrıca tübüllerin birbirinden ayrıldığı, düzensiz yerleşim gösterdiği gözlenmiştir.

Sahreen ve arkadaşlarının sıçanlarla yaptığı 8 haftalık bir çalışmada haftada 2 kere 0.5 ml/kg CCl₄ i.p. olarak uygulanmıştır. CAT ve SOD miktarları azalmıştır. Testosteron, FSH ve LH seviyelerinde de düşüş gözlenmiştir. CCl₄ intoksikasyonu sebebiyle görülen dejenerasyonlar ise, germ hücre kayıpları, anormal germinal epitel, mayoz kesintisi, sperm şekil ve konsantrasyonunda anormallikler ve seminifer tübülde delokalizasyon olarak gözlenmiştir (Sahreen vd., 2013)

Flavonoid ailesi içerisindeki kuersetin kuvvetli reaktif oksijen türleri ve reaktif nitrojen türleri temizleyicisidir. Kuersetin, glikozidik bağlarla fenolik gruplara bir ya da daha fazla şeker grubunun bağlanmasıyla oluşan glikozitler ya da aglikonlar şeklinde bitkinin temel olarak yapraklarında ve diğer bölümlerinde meydana gelir (Kalender vd., 2012).

Kuersetinin prostat kanserinde potansiyel koruyucu ajan olabileceği gösterilmiştir. Kuersetin, prostat tümör hücre modelinde doza bağlı olarak apoptozu uyarmaktadır ve hücre büyümesini inhibe etmektedir. Kanser başlangıcının, ilerlemesinin ve yayılmasının engellenmesine yönelik yaklaşımlardan biri reaktif oksijen türlerinin temizlenmesidir.

Kuersetin, süperoksit ve hidroksil radikallerini temizlemektedir, lipid peroksidasyonunu inhibe etmektedir ve lipid peroksil radikallerini azaltmaktadır. Birçok araştırmacı, kuersetin antioksidan aktivitesi sayesinde erkek üreme işlev bozukluğu üzerinde iyileştirme etkisi olduğunu bildirmiştir. Buna ek olarak, kuersetin LPO antioksidan enzim aktivitesinin artırılması ve azaltılması ile CCl₄ 'ün neden olduğu karaciğer fibrozu üzerine yararlı bir etkiye sahip olduğu bildirilmiştir (Abarikwu vd., 2012; Abdallah 2011, Kanter vd., 2003; Khaki, 2010; Türk vd., 2013; Zhang vd., 1996).

Kalender ve arkadaşlarının sıçanlarla yaptığı 4 haftalık bir çalışmada günlük 20 mg/kg dozda kuersetin % 0.5'lik dimetil sülfoksit içinde çözülerek gavaj yoluyla verilmiştir. Sonuç olarak meydana gelen bu değişiklikler ile klorprifos uygulanan ratların testislerinde meydana gelen değişiklikler karşılaştırıldığında, klorprifosun neden olduğu testiküler toksisiteye karşı kuersetinin kısmi koruyucu etkinliğe sahip olduğu kanıtlanmıştır. Dördüncü hafta sonunda klorprifos uygulanan gruptaki ratların seminifer tübüllerinde nekroz, dejenerasyon, bazal spermatojenik hücrelerde kayıp, seminifer tüpçüklerin bazal bölgesindeki hücrelerde ayrılmalar ve interstisyel alanda ödem gözlenmiştir. Fakat kuersetin+klorprifos uygulanan grupların, klorprifos uygulanan grup ile karşılaştırıldığında histopatolojik değişikliklerde azalmaların olduğu gözlenmiştir (Kalender, 2012). Bizim çalışmamızda da testis yapısına hasar verilen gruptaki kuersetin uygulamasının testisin histolojik görünümündeki bozuklukları azalttığı gözlemlendi.

Khaki ve arkadaşlarının sıçanlarla yaptığı 4 haftalık bir çalışmada günlük 15 mg/kg dozda i.p. olarak uygulanan kuersetinin, sperm motilitesi, canlılığında artış görülürken, anormal sperm sayısında azalma görülmüştür (Khaki, 2010).

Taepongsorat ve arkadaşlarının sıçanlarla yaptığı bir çalışmada 0, 30, 90 ve 270 mg/kg doz kuersetin her bir gruba 3, 7 ve 14 gün boyunca subkutan yolla enjekte edilerek verilmiştir. Herhangi bir dozun (30, 90 ve 270 mg/kg) 3 günlük tedavi süresinde, testis ağırlığı ve sperm kalitesi üzerinde bir etkisinin bulunmadığı gözlenmiştir. Testis ağırlıklarında önemli artış sadece 14 gün boyunca 270 mg/kg doz kuersetin tedavisinde görülmüştür. Testiste histolojik değişiklik ise 270 mg /kg doz kuersetinin 7 gün ve 14 gün boyunca verildiğinde görülmüştür. Kuersetinin sperm kalitesi (motilite, canlılık, konsantrasyon) üzerine etkisinin, testis ağırlık ve histolojisine göre daha hızlı ve fazla olduğu tespit edilmiştir. Kuersetin gruplarının, kontrol grubuyla karşılaştırılmasında vücut ağırlıklarında önemli bir fark görülmemiştir. 7 gün ve 14 gün boyunca 270 mg/kg kuersetin verilen gruplarda testis ağırlığında artışın seminifer tübüllerin genişlemesinin ve spermatazoa tutma kapasitesinin artışından kaynaklandığı ve bu bulgulara dayanarak kuersetinin sperm üretimini arttırdığı kabul edilmiştir. Sonuç olarak kuersetin tedavisinin (subkutan enjeksiyonu ile) dozlarının tüm parametreleri göz önüne alındığında, sperm kalitesini ve cinsel organ fonksiyonlarını iyileştirme anlamında pozitif üreme etkisi 14 gün boyunca 270 mg/kg ve de kısmen 90 mg/kg doz verilen gruplarda gözlenmiştir. Kuersetinin dolaylı olarak hücresel ve organ düzeyinde, hem de cinsel organların uyarılması ile sperm kalitesini etkileyebilir olduğu gözlenmiştir (Taepongsorat, 2008).

Abdallah ve arkadaşlarının sıçanlarla yaptığı bir çalışmada günlük tek doz 50 mg/kg kuersetin i.p. olarak verildi. Sonuç olarak kuersetin, sperm sayısını arttırırken, anormal sperm sayısında azalma sağlamıştır. 61.2 mg/kg LTC ve LTC verildikten 12 saat sonra tek doz 50 mg/kg kuersetin verilen grup karşılaştırıldığında ise sperm sayısı, sperm canlılığı, sperm motilitesininin anlamlı derecede arttığı ve anormal sperm sayısının ise azaldığı görülmektedir (Abdallah, 2011).

Aldemir ve arkadaşlarının sıçanlarla yaptığı bir çalışmada günlük 20 mg/kg kuersetin 7 gün boyunca gavaj yoluyla uygulanmıştır. Bu çalışmada görülmüştür ki, I/R lı grup ve I/R+kuersetin uygulanmış gruplar kıyaslandığında kuersetin seminifer tübül çapını arttırmış, interstisyel hasarı azaltmış, seminifer tübüllerdeki ödem, konjesyon, kanama gibi hasarları azaltmıştır. Bununla beraber histolojik bulgular incelendiğinde, kuersetin uygulanan gruptaki testiküler hücrelerin normale yakın görünümü dikkat çekmiştir (Aldemir, 2011). Yaptığımız çalışmada da testis yapısına hasar verilen gruptaki kuersetin uygulamasının tübüler hasarı azaltarak bazı tübüllerde ise ortadan kaldırdığı gözlenmiştir.

Abarikwu ve arkadaşlarının sıçanlarla yaptığı bir çalışmada, günlük 10 mg/kg kuersetin 5 gün boyunca gavaj yoluyla uygulanmıştır. Kadmiyum ve kadmiyum+kuersetin uygulanan grup karşılaştırıldığında, kuersetin uygulanan grupta vücut ve testis ağırlığında önemli bir artış görülürken, sperm yoğunluğu ve motilitesi artmış, anormal sperm sayısında ise azalma görülmüştür (Abarikwu, 2012).

Gerek CCl₄ gerekse QE'nin farklı maddelerde kombine edildiği birçok araştırma sonuçları bizim çalışmamızda gözlenen bulgulara benzer bulgular göstermiştir.

Sunulan bu çalışmada CCl₄ ve QE birlikte çalışılmış ve etkileri araştırılmıştır. CCl₄ uygulanan sıçanların testislerinde ciddi hücresel hasar gözlenmekle birlikte CCl₄ ile beraber QE uygulamasının bu hasarı azalttığı görülmektedir.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

1. CCl_4 , testis üzerinde oldukça toksik etki göstermektedir. Bazal membranda kalınlaşma, seminifer tübüllerde vakuolizasyon, tübüller ve spermatojenik hücrelerde yoğun hasar, spermatogonyumlarda kromatin yoğunlaşmasına bağlı piknotik çekirdek, interstisyel alanda ödem oluşumu ve damarlarda konjesyon ve dilatasyona neden olarak spermatogenezi olumsuz yönde etkilemektedir.

2. 7 gün boyunca günde bir 0.5 mg/kg CCl_4 ile 20 mg/kg QE verilen grupta, testis ağırlığı ve vücut ağırlığında herhangi bir azalma gözlenmemiştir.

3. 7 gün boyunca günde bir 0.5 mg/kg CCl_4 ile 20 mg/kg QE verilen grupta QE, CCl_4 'ün testis üzerinde oluşturduğu hasarı azaltmaktadır.

4. Kuersetin'in, CCl_4 'ün toksitesini nasıl önlediğinin ortaya konmasında ileri enzimatik, biyokimyasal ve immünohistokimyasal düzeyde yapılacak araştırmalar bu konuda ek bilgiler ve kanıtlar sağlayabilir.

KAYNAKLAR DİZİNİ

Abarikwu, S. O., Pant, A. B., Farombi, E. O. (2012). *The protective effects of quercetin on the cytotoxicity of atrazine on rat Sertoli-germ cell co-culture: International Journal of Andrology, 2012, 35, 590-600* doi:10.1111/j.1365-2605.2011.01239.x

Abdallah, F., Fetoui, H., Zribi, N., Fakhfakh, F., Keskes, L. (2011). Quercetin attenuates lambda cyhalothrin-induced reproductive toxicity in male rats: *Environ Toxicol. 2013 Dec;28(12):673-80.* doi: 10.1002/tox.20762. Epub 2011 Sep 2.

Abraham, L. (2006). *Üreme Sistemi, Histoloji ve Hücre Biyolojisi 1.* Ankara: Palme Yayıncılık.

Ajay, M., Gilani, A. H., Mustafa, M. R. (2003). *Effects of Flavonoids on Vascular Smooth Muscle of the Isolated Rat Thoracic Aorta: Life Sci., 74:603-612*

Ajiboye, T. O. (2011). *In vivo antioxidant potentials of Piliostigma thonningii (Schum) leaves: Studies on hepatic marker enzyme, antioxidant system, drug detoxifying enzyme and lipid peroxidation. Human and Experimental Toxicology, 30, 1, 55-62 p.*

Aldemir, M., Özgün, G., Önen, E., Okulu, E., Kayıgil, Ö. (2012). *Quercetin has a protective role on histopathological findings on testicular ischaemia-reperfusion injury in rats. Andrologia.; 44 Suppl 1:479-83.* doi: 10.1111/j.1439- 0272.2011.01211.x. Epub 2011 Aug 1.

Alıcı, S., Kösem, M., Çalka, Ö., Kotan, Ç., Mercan, R. (2003). *Erkek meme karsinomu (Olgu Sunumu). Türkderm, 37: 117-119 s. 12*

Alric, L., Orfila, C., Carrere, N., Beraud, M., Carrera, G., Lepert, J. C., Duffaut, M., Pipy, B., Vinel, J.P. (2000). *Reactive oxygen intermediates and eicosanoid production by kupffer cells and infiltrated macrophages in acute and chronic liver injury induced in rats by CCl₄ . Inflammation Research, 49, 12, 700-707 p.*

Altan, N., Dinçel, A. S., Koca, C. (2006). *Diabetes Mellitus ve Oksidatif Stres, Türk Biyokimya Dergisi [Turkish Journal of Biochemistry - Turk J Biochem] 2006; 31 (2); 51-56.*

April, E. W. (1998). *NMS Klinik Anatomi.* (Çeviri Editörü: Yıldırım M.), İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri.

Arıncı, K. ve Elhan, A. (2006). *Anatomi 1. Cilt.* Ankara: Güneş Kitabevi. ISBN, 975-7467-29-4

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

Basu, S. (2003). *Carbon tetrachloride-induced lipid peroxidation: eicosanoid formation and their regulation by antioxidant nutrients. Toxicology, 189, 113-127 p.*

Ben, A. F., Fetoui, H., Zribi, N., Fakhfakh, F., Keskes, L. (2013). *Quercetin attenuates lambda cyhalothrin-induced reproductive toxicity in male rats. Environ Toxicol.; 28(12):673-80. doi: 10.1002/tox.20762. Epub 2011 Sep 2.*

Bilgiç, S. (2011). Karaciğeri rejenere olan ve olmayan sıçanlarda karbon tetraklorürle (CCl₄) indüklenen akut karaciğeri ve N-asetilsisteinin koruyucu etkisi, Doktora Tezi, İnönü Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Malatya

Bloom, W., Fawcett, D.W. (1994). *A textbook of histology. Chapman&Hall: London.*

Burak, M. ve Çimen, Y. (1999). *Flavonoidler ve Antioksidan Özellikleri. Türkiye Klinikleri, J Med Sci, 19, 296-304.*

Casagrande, R., Georgetti, S. R., Verri, W. A., Jabar, J.R., Santas, A.C., Fonseca M.J.V. (2006). *Evaluation of Functional Stability of Quercetin as a Raw Material and in Different Topical Formulations by its Antilipoperoxidative Activity. AAPS PharmSciTech 2006; 7 (1) Article 10 <http://www.aapspharmstech.org>*

Cengiz, E. (2011). Kayısı (*Prunus armeniaca* L.) Ve Kayısı Çekirdeğinde Kuersetinin HPLC-MS İle Tayini, Yüksek Lisans Tezi, Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Şanlıurfa

Çetin, E., Çetin, N. (2011). *Sıçanlarda Karbon Tetraklorür ile Oluşturulan Oksidatif Beyin ve Böbrek Hasarına Karşı Grelinin Koruyucu Etkisi. Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg. 2011;6(3):195-200*

Cook, N. C., Saman, S. (1996). *Flavonoids-Chemistry Metabolism, Cardioprotective Effects, and Dietary Sources. J. Nutr. Biochem. 7:66-76*

Crozier, A., Burns, J., Aziz, A. A., Stewart, A. J., Rabiasz, H. S., Jenkins, G. I., Edwards C. A., Lean, M. E. (2000). *Antioxidant flavonols from fruits, vegetables and beverages: measurements and bioavailability. Biol Res. 2000;33(2):79-88.*

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

Cuciureanua, M., Caruntu, I. D., Paduraruc, O., Stoicac, B., Jercac, L., Crauciuca, E., Nechifor, M. (2009). *The protective effect of montelukast sodium on carbon tetrachloride induced hepatopathy in rat. Prostaglandins & Other Lipid Mediators*, 88, 82-88 p.

Çetin, E., Çetin, N. (2011) *Sıçanlarda Karbon Tetraklorür ile Oluşturulan Oksidatif Beyin ve Böbrek Hasarına Karşı Grelinin Koruyucu Etkisi. Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg.*;6(3):195-200

Çolak, E. (2011). Karbon Tetrakloridin (CCl₄) İndüklediği Karaciğer Hasarı ve Oksidatif Stres Üzerine Cynara scolymus L. Yaprağı Ekstraktının Etkileri. Yüksek Lisans Tezi, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir

Das, S., Santra, A., Lahiri, S., Guhamazumder, D. N. (2005). *Implications of Oxidative stress and Hepatic cytokine (TNF-alpha and IL-6) response in the pathogenesis of hepatic collagenesis in chronic arsenic toxicity. Toxicol. Appl. Pharmacol.*; 204: 18- 26.

De Souza, L. M. (2008). *HPLC/ESI-MS and NMR analysis of flavonoids and tannins in bioactive extract from leaves of Maytenus ilicifoli. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 47(1), 59-67.

Dere, F. (1999). *Anatomi atlası ve Ders Kitabı*. Adana: Nobel Tıp Kitabevleri

Devay, D. S. (2008). Karbon tetraklorür ile Deneysel Siroz Oluşturulan Ratlarda Serbest Radikal Metabolizması; Stobadin'in Antioksidan Etkisi. Tıpta Uzmanlık Tezi, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Ankara

Ergüzel, E. T. (2006). Quercetin (3,3',4',5,7-pentahidroksiflavon) 'in Bakır (II) ve Çinko (II) Komplekslerin Kararlılık Sabitlerinin Tayini, Yüksek Lisans Tezi, Marmara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul

Faroon, O., Roney, N., Taylor, J., Fransen, M., Bogaczyk S., Diamond, G. (2005). *Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). Toxicological Profile for Carbon Tetrachloride*. Atlanta: U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service

Formica J.V. (1995). *Regelson W. Review of the biology of Quercetin and related bioflavonoids. Food Chem Toxicol* 1995;33:1061-1080.

Gartner, L.P., Hiatt, J.L. (2003). *Color Textbook of Histology*. (2nd Ed.)

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

Gülcen, B., Karaca, Ö., Kuş, M. A., Çolakoğlu, S., Ögetürk, M., Kuş, İ. (2012). *DeneySEL Karbon Tetraklorür Zehirlenmesinde Akciğer Doku Hasarı ve Melatonin Hormonunun Koruyucu Rolü: Işık Mikroskopik ve Biyokimyasal Bir Çalışma. Düzce Tıp Dergisi 2012; 14(3): 37-42*

Güner, G., (2010). CCl₄ ile sıçanlarda oluşturulmuş akut karaciğer toksisitesinde yabanmersininin koruyucu etkileri. Tıpta uzmanlık tezi, Ege Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İzmir

Güven, C. ve Tekelioğlu, M. (2004). *Histoloji-Embriyoloji Terimleri Sözlüğü*, Sendrom III, Logos tıp yayıncılığı, cilt 2-5.

Halliwell, B. (1995). *Antioxidant characterization: Methodology and mechanism*. [http://dx.doi.org/10.1016/0006-2952\(95\)00088-H](http://dx.doi.org/10.1016/0006-2952(95)00088-H)

Hartley, D. P., Kolaja, K. L., Reinhold, J., Peterson, D. R. (1999). *4-Hydroxynonenal And malondialdehyde hepatic protein adducts in rats treated with carbon tetrachloride: immunochemical detection and lobular localization. Toxicol. Appl. Pharmacol.; 161(1): 23-33.*

Hollman, P. C., Gaag, M., Mengelers, M. J., Trijp J. M., Vries, J. H, Katan, M. B. (1996). *Absorption and disposition kinetics of the dietary antioxidant quercetin in man. Free Radical Biology and Medicine Volume 21, Issue 5, 1996, Pages 703-707*

Horn, M. M., Ramos, A. R., Winkelmann, L., Matte, U. S., Goldani, H. A., Silveira, T. R. (2006). *Seminiferous epithelium of rats with food restriction and carbon tetrachloride- induced cirrhosis. nt Braz J Urol. Jan-Feb;32(1):94-9; discussion 99.*

Irina, I., Mohamed, G. (2012). *Biological Activities and Effects of Food Processing on Flavonoids as Phenolic Antioxidants*. Nancy University – ENSAIA, France

Junqueira, L. C., Carneiro, J., 2005, *Temel Histoloji*, (Çev.: Aytekin, Y., Solakoğlu, S.,) İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi, s. 418-434

Kalender, Y., Kaya, S., Durak, D., Uzun, F. G., Demir, F. (2012). *Protective effects of catechin and quercetin on antioxidant status, lipid peroxidation and testis-histoarchitecture induced by chlorpyrifos in male rats. Environ Toxicol Pharm 33, 141-148.*

Kahraman, A., Serteser, M., Köken, T. (2002). *Flavonoidler. Kocatepe Tıp Dergisi, 3, (2002) 01-08.*

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

Kandaswami, C., Middleton, E. (1994). *Free radical scavenging and antioxidant of plant Flavonoids*. *Adv Exp Med Biol*. 1994;366:351-76.

Kanter, M., Meral, I., Dede, S., Gunduz, H., Cemek, M., Ozbek, H., Uygan, I. (2003). *Effects of Nigella sativa L. And Urtica dioica L. on lipid peroxidation, antioksidant enzyme systems and some liver enzymes in CCl4-treat rats*. *J. Vet. Med. A:Physiol. Pathol. Clin. Med.*; 50: 264-268.

Karakaya, S. ve El, S. N. (1999). *Quercetin, luteolin, apigenin and kaempferol contents of some foods*. *Food Chem.*, 66, 289-292.

Karaca, Ö., Pekmez, H., Kuş, M. A., Akpolat, N., Ögetürk, M., Kuş, İ. (2011). *DeneySEL Karbon Tetraklorür Toksikitesi Sonucu Karaciğerdeki İŞP70 İmmunoreaksiyon Artışı Üzerine Melatonin Hormonunun Etkisi*. *F.Ü.Sağ.Bil.Tıp Derg*. 2011: 25 (2): 73 - 76 37)

Karadeniz, A., Yıldırım, A., Çelebi, F. (2007). *Protective effect of Panax ginseng against carbon tetrachloride (CCl₄)-induced oxidative brain injury in rats*. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*, 2, 3, 117-121 p

Karbon tetra klorür. (2013). Vikipedi sözlük
Erişim: http://tr.wikipedia.org/wiki/Karbon_tetra_klorür

Kayaalp, O. (1991). *Tıbbi Farmakoloji 1.Cilt*, Ankara: Feryal Matbaacılık

Khaki, A., Fathiazad, F., Nouri, M., Khaki, A., Maleki, N. A., Khamnei, H. J. and Ahmadi, P. (2010). *Beneficial effects of quercetin on sperm parameters in streptozotocin-induced diabetic male rats*. DOI: 10.1002/ptr.3100

Khan, M. R., Ahmed, D. (2009). *Protective effects of Digera muricata (L.) Mart. on testis against oxidative stress of carbon tetrachloride in rat*. *Food Chem Toxicol*. 2009 Jun;47(6):1393-9. doi: 10.1016/j.fct.2009.03.020. Epub 2009 Mar 25.

Khan, R. A. (2012). *Protective effects of Launaea procumbens on rat testis damage by CCl₄*, *Khan Lipids in Health and Disease*. 11:103

Kierszenbaum A. L., (2006). *Histoloji ve hücre biyolojisi*. (Çev., Demir R.). Ankara: Palme Yayıncılık

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

Kitiz, B. (2011). Karbon tetraklorür (CCl₄) verilen rat böbrek dokularında oksidan/antioksidan sistemlerin araştırılması, Doktora Tezi, Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara

Kühnau, J. (1976). *The flavonoids. A class of semi-essential food components: their role in human nutrition. World Rev. Nutr. Diet, 24, (1976) 117-191.*

Kükner, A., Tore, F., Firat, T., Terzi, E. H., Oner, H., Balaban, Y. H., Ozogul, C. (2010). *The preventive effect of low molecular weight heparin on CCL₄ -induced necrosis and apoptosis in rat liver. Ann Hepatol. 2010 Oct-Dec;9(4):445-54.*

Lima, C. F., Fernandes-Ferreira, M., Pereira-Wilson, C. (2007). *Drinking of Salvia officinalis tea increases CCL₄ -induced hepatotoxicity in mice. Food and Chemical Toxicology 45, 3, 456- 464 p.*

Maher, P., Akaishi, T., Abe, K. (2006). *Flavonoid fisetin promotes ERK-dependent long-term potentiation and enhances memory. doi: 10.1073/pnas.0607822103*

Manjrekar, A. P., Jisha, V., Bag, P. P., Adhikary, B., Pai, M. M., Hegde, A., Nandini, M. (2008). *Effect of Phyllanthus niruri Linn. treatment on liver, kidney and testes in CCL₄ induced hepatotoxic rats. Indian J Exp Biol.; 46(7):514-20.*

Marieb, E. N. (2001). *Human Anatomy and Physiology. (5th Ed.). Benjamin Cummings, San Francisco. s.567-588.*

Mayer, B., Hemmens, B. (1997). *Biosynthesis and action of nitric oxide in mammalian cells. TIBS, 22:477-481*

Merken, H. M., Beecher, G. R. (2000). *Measurement of food flavonoids by High-Performance Liquid Chromatography: A Review, J. Agric. Food Chem., 48 (3), 577-599.*

Middleton, E., Kandaswami, C., Theoharides, T. C. (2000). *The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer. Pharmacol Rev. 2000 Dec;52(4):673-751.*

Moore, K. L., Agur, A. M. L. (2006). *Temel Klinik Anatomi 2. (Çev.: Elhan, A.). Ankara: Güneş Kitabevi*

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

Moore, K. L. (2008). *İnsan Embriyolojisi*. (Çev: Dalçık, H., Yıldırım, M.). İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, s. 271 – 272

Murota, K., Terao, J. (2003). *Antioxidative flavonoid quercetin: implication of its intestinal absorption and metabolism*. *Arch Biochem Biophys*. 2003 Sep 1;417(1):12-7.

Nabavi, S. F., Moghaddam, A. H., Nabavi, S. M., Eslami S. (2011). *Protective Effect Of Curcumin And Quercetin On Thyroid Function In Sodium Fluoride Intoxicated Rats*, *Research report Fluoride* 44(3)147–152 July-September 2011

Nijveldt R. J., van Nood E., van Hoorn D. E., Boelens P. G., van Norren K., van Leeuwen P. A. (2001). *Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications*. *Am J Clin Nutr*. 2001 Oct;74(4):418-25.

Ogeturk, M., Kus, I., Kavakli, A., Oner, J., Kukner, A., Sarsilmaz, M. (2005). *Reduction of carbon tetrachloride-induced nephropathy by melatonin administration*. *Cell Biochem Funct*; 23: 85-92.

Orfila, C., Lepert, J. C., Alric, L., Carrera, G., Beraud, M., Vinel, J. P. and Pipy, B. (1999). *Expression of TNF-alpha and immunohistochemical distribution of hepatic macrophage surface markers in carbon tetrachloride-induced chronic liver injury in rats*. *The Histochemical Journal*, 31,677-685 p.

Ovalle, W., Nahirney, P. (2009). *Netter Temel Histoloji*. (Çev.: Müftüoğlu, S., Kaymaz, F., Atilla, P.). Güneş Tıp Kitabevleri.

Öğütürk, M., Çolakoğlu, N., Kuş, M. A., Kuş, İ., Sarsılmaz, M. (2009). *Karbon tetraklorür ile oluşturulan deneysel akciğer hasarında kafeik asit fenetil esterinin koruyucu etkinliği*. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 23, 2, 57- 61 p.

Özdamar, S., Sorkun, H. (2002). *Genel Embriyoloji*. Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayınları, Kayseri

Öztürk, İ. Ç., Öztürk, F., Gül, M., Ateş, B., Çetin, A. (2009). *Protective effects of ascorbic acid on hepatotoxicity and oxidative stress caused by carbon tetrachloride in the liver of Wistar rats*. *Cell Biochemistry And Function*, 27, 309-315 p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

Park, J. M. (2007). *Wein: Campbell-Walsh Urology. 9th Ed. Section XVII–Pediatric Urology, Chapter 106–Normal Development of the Urogenital System*.p. 657-684.

Polat, Ç., Tokyol, Ç., Kahraman, A., Sabuncuoğlu, B., Yılmaz, S. (2006). *The Effect of Desferrioxamine and Quercetin on Hepatic Ischemia-Reperfusion Induced Renal Disturbance. PLEFA, 74:379-388*

Pope, A. M., Rall, D. P. (1995). Environmental medicine: Integrating a missing element into medical education.

http://books.google.com.tr/books?id=VHQRWoaYNpIC&printsec=frontcover&hl=tr&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false

Prior R. L. (2003). *Fruits and vegetables in the prevention of cellular oxidative damage. Am J Clin Nutr. 2003 Sep;78(3 Suppl):570S-578S.*

Rao, P. S., Mangipudy, R. S., Mehendale H. M. (1997). *Tissue injury and repair as Parallel and opposing responses to CCl₄ hepatotoxicity: a novel dose response. Toxicology ; 118: 181-193.*

Richter M., Ebermann R., Marian B. (1999). *Quercetin induced apoptosis in colorectal tumor cells: possible role of EGF receptor signaling. Nutr Cancer. 1999;34(1):88-99.*

Ross, M. H., Romrell, L. J., Kaye, G. I. (1995). *Histology - A text and atlas. (3rd Ed.)*. Baltimore: Williams & Wilkins Company

Sadler, T. W. (1990). *Langman's Medikal Embriyoloji*. Ankara: Palme Yayıncılık

Sahreen, S., Khan, M. R., Khan, R. A. (2013). *Ameliorating effect of various fractions of Rumex hastatus roots against hepato- and testicular toxicity caused by CCl₄ . Oxid Med Cell Longev. ;2013:325406. doi: 10.1155/2013/325406. Epub 2013 May 14.*

Sancak, B., Cumhuri, M. (1999). *Fonksiyonel anatomi baş-boyun ve iç organlar 2*. Ankara: ODTÜ Geliştirme Vakfı Yayıncılık ve İletişim A.Ş.-METU Press

Sangai, N. P., Verma, R. J. (2012). *Protective effect of quercetin on bisphenol A-caused alterations in succinate dehydrogenase and adenosine triphosphatase activities in liver and kidney of mice. Acta Pol Pharm. 2012 Nov-Dec;69(6):1189-94.*

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

Sanzgiri, U. Y., Srivatsan, V., Muralidhara, S., Dallas, C. E., Bruckner, J. V. (1997). *Uptake, distribution, and elimination of carbontetrachloride in rat tissues following inhalation and ingestion exposure. ToxicolApplPharmacol; 143: 120 - 129.*

Senger, P. L. (2011). *Pathways to Pregnancy and Parturition, (2nd Ed.)*

<http://www.studyblue.com/notes/note/n/ansci-2400-final-exam-2011/deck/898026>

Shenoy K. A., Somayaji, S. N., Bairy, K. L. (2001). *Hepatoprotective effects of Ginkgo biloba against carbon tetrachloride induced hepatic injury in rats. Indian Journal of Pharmacology, 33, 260-266 p.*

Spencer, P. E. J. (2007). *Biomarkers of the intake of dietary polyphenols: strengths, limitations and application in nutrition research, British J. Nutrition, 1-11.*

Şahin, A., Yener, Z., Dağoğlu, G., Dede, S., Oto, G., Alkan, M. (2003). *Karbontetraklorid (CCl₄) ile deneysel olarak karaciğer nekrozu oluşturulan ratlarda vitamin E + selenyum ve Nigella sativa (çörekotu)'nın karaciğer yıkımını engelleyici etkileri. Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences, 27, 141-152 p.*

Şahin, T. (2011). *Karbon tetraklorür (CCl₄) verilen rat kalp dokularında oksidan / antioksidan sistemlerin araştırılması. Doktora Tezi, Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara*

Taepongsorat, L., Tangpraputgul, P., Kitana, N., Malaivijitnond, S. (2008). *Stimulating effects of quercetin on sperm quality and reproductive organs in adult male rats. Asian J Androl.; 10(2):249-58. Epub 2007 Dec 20.*

Tirkey N., Pilkhwal S., Kuhad A., Chopra K. (2005). *Hesperidin, a citrus bioflavonoid, decreases the oxidative stress produced by carbontetrachloride in rat liver and kidney. BMC Pharmacol., 5, 2.*

Thrall, K. D., Vucelick, M. E., Gies, R. A., Benson, J. M. (2000). *Comparative metabolism of carbontetrachloride in rats, mice, and hamsters using gas uptake and PBPK modeling. J Toxicol Environ Health A ; 60(8): 531- 548.*

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

Türk, G., Çeribaşı, S., Sönmez, M., Çiftçi, M., Yüce, A., Güvenç, M., Özer, K. S., Çay, M., Aksakal, M. (2013). *Ameliorating effect of pomegranate juice consumption on carbon tetrachloride-induced sperm damages, lipid peroxidation, and testicular apoptosis. Toxicol Ind Health.* 2013 Sep 30.

Williams, A. T., Burk, R. F. (1990). *Carbon tetrachloride hepatotoxicity: an example of free radical-mediated injury. Semin. Liver Dis.; 10: 279-284.*

Xing, N., Chen, Y., Mitchell, S.H., Young, C.Y. (2001). *Quercetin inhibits the expression and function of the androgen receptor in LNCaP prostate cancer cells. Carcinogenesis, 22, (2001) 409-414*

Zhang, D., Yasuda, T., Yu, Y., Zheng, P., Kawabata, T., Ma, Y., Okada, S. (1996). *Ginseng extract scavenges hydroxyl radical and protects unsaturated fatty.*

[http://dx.doi.org/10.1016/0891-5849\(95\)02020-9](http://dx.doi.org/10.1016/0891-5849(95)02020-9)

ÖZGEÇMİŞ

Bireysel Bilgiler

Adı-Soyadı : HATİCE EMEK
Doğum tarihi ve yer : 22/06/1987 MANİSA/MERKEZ
Uyruđu : TC
Medeni durumu : Bekar
İletişim adresleri : emekhatice@gmail.com

Eğitim Durumu

2007-2011 Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Biyoloji Bölümü,
ESKİŞEHİR
2002-2006 Manisa Anadolu Lisesi, MANİSA
1994-2002 Ali Rıza Çevik İlköğretim Okulu, MANİSA

Mesleki Deneyim

Klinik Araştırma Koordinatörü – Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, 2014

Bilimsel Etkinlikler

ICH – GCP, Local Regulations or Clinical Trials and Study Coordinator
Education, İSTANBUL-2014

Kök Hücre Sempozyumu-Celal Bayar Üniversitesi, ÇEŞME-2012.

Tıbbi ve Cerrahi Deneysel Araştırma Merkezi (TICAM), Deney
hayvanları ile araştırma temel eğitim kursu, Eskişehir Osmangazi
Üniversitesi, ESKİŞEHİR-2011