

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



**PREPUBERTAL DÖNEMDE 2,3,7,8-
TETRAKLORODİBENZO-p- DİOKSİN (TCDD) İLE
OLUŞTURULMUŞ TESTİKÜLER HASAR ÜZERİNE
CHRYSİN'İN ETKİLERİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

SONGÜL YILMAZ

2017

ONAY SAYFASI

Prof. Dr. Mustafa KAPLAN

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Bu tez Yüksek Lisans Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

Prof. Dr. Enver OZAN

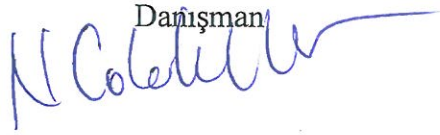
Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Başkanı



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

Prof. Dr. Neriman ÇOLAKOĞLU

Danışman

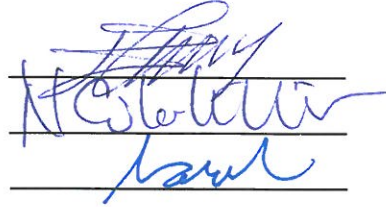


Yüksek Lisans Sınavı Jüri Üyeleri

Prof. Dr. İ. Enver OZAN

Prof. Dr. Neriman ÇOLAKOĞLU

Prof. Dr. Nigar VARDI





ETİK BEYAN

Kendime ait çalışmalar ile bu tez çalışmasını gerçekleştirdiğimi, çalışmaların planlanmasından, bulgularının elde edilmesine ve yazım aşamasına kadar tüm aşamalarında etiğe aykırı davranışım olmadığını, bu tezdeki tüm bilgileri ve verileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışması içinde yer alan ancak bu tez çalışmasının bulguları arasında yer almayan verilere, bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi beyan ederim.

Adı Soyadı

Tarih

İmza

Songül YILMAZ

15/09/2017

Danışman

Anabilim Dalı

ELAZIĞ

Prof. Dr. Neriman ÇOLAKOĞLU

Histoloji ve Embriyoloji AD

İTHAF SAYFASI

Sevgili Aileme...



TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim süresince tecrübelerinden faydalandığım, değerli danışman hocam sayın Prof. Dr. Neriman ÇOLAKOĞLU'na,

Eğitimim süresince beni yönlendiren, iyi niyetleriyle her zaman destek olan ve her an bilgi birikimlerinden faydalandığım Fırat Üniversitesi

Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Başkanı sayın Prof.

Dr. İ. Enver OZAN'a ve değerli Öğretim Üyeleri sayın Prof. Dr. Leyla

CANPOLAT KOYUTÜRK'e, Prof. Dr. Dürrin Özlem DABAK'a, Yrd.

Doç. Dr. Tuncay KULOĞLU'na, Yrd. Doç. Dr. Nevin KOCAMAN'a,

Tez çalışmam da yardımcı olarak katkıda bulunan Arş. Gör. Nalan

KAYA'ya, Arş. Gör. Ahmet TÜRK'e ve Arş. Gör. Dr. Elif ERDEM

GÜZEL'e, Bio. Osman Fatih YILMAZ ile yüksek lisans arkadaşım K. Esin

TAŞDEMİR'e,

Tezime sağladığı finansmandan ötürü Fırat Üniversitesi Bilimsel

Araştırma Projeleri Birimi (FÜBAP) 'ne,

Son olarak yaşamım boyunca desteklerini esirgemeyen değerli

aileme ve eşim Arş. Gör. Dr. Kemal YILMAZ'a çok teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

BAŞLIK SAYFASI	i
ONAY SAYFASI	ii
BEYAN SAYFASI	iii
İTHAF SAYFASI	iv
TEŞEKKÜR	v
İÇİNDEKİLER	vi
TABLolar LİSTESİ	ix
ŞEKİLLER LİSTESİ	x
KISALTMALAR LİSTESİ	xii
1.ÖZET	1
EFFECTS OF CHRYSIN ON TESTICULAR DAMAGE INDUCED BY 2,3,7,8-TETRACHLORODIBENZO-p-DIOXIN (TCDD) DURING PREPUBERTAL PERIOD	5
2. ABSTRACT	5
3. GİRİŞ	8
3.1. TESTİS	8
3.1.1. Testis Anatomisi	8

3.1.2. Testis Embriyolojisi.....	10
3.1.3. Testis Fizyolojisi.....	12
3.1.4. Testis Histolojisi	14
3.1.4.1. Testisler	14
3.1.4.2. Seminifer Tübüller	15
3.1.4.3. Sertoli Hücreleri	16
3.1.4.4. Leydig Hücreleri	17
3.1.4.5. Spermatogenez	18
3.1.4.6. Spermiyogenez.....	20
3.2. TCDD (2,3,7,8- tetraklorodibenzo-p-dioksin).....	22
3.2.1. Dioksin ve Benzeri Bileşikler.....	22
3.2.2. Toksik Eşdeğer Faktörleri ve Toksik Eşdeğerlikler	23
3.2.3. Dioksin Kaynakları ve Oluşumu	25
3.2.4. Dioksinin Etki Mekanizması	27
3.2.5. Dioksinlerin Toksikokinetikleri.....	29
3.2.5.1. Emilim ve Dağılımı.....	29
3.2.5.2. Dioksinin Atılımı	30
3.2.6. Dioksinlerin Zehirlilikleri.....	31
3.2.7. Tolere Edilebilir Doz	34
3.2.8. Toksikite Durumunda Tedavi	35
3.3. Oksidatif Stres ve Serbest Radikaller	36
3.3.1. Memelilerdeki Başlıca Serbest Radikaller.....	37
3.4. Apoptozis.....	40
3.5. Antioksidan Savunma Sistemleri	41
3.6. Flavonoidler.....	42
3.6.1. Chrysin.....	43
3.7. Araştırmanın Amacı	45
4.GEREÇ VE YÖNTEM.....	46

4.1. Deney Hayvanlarının Beslenmeleri ve Barındırılmaları	46
4.2. Deney Gruplarının Oluşturulması ve Deneysel Uygulamalar.....	48
4.3. Doku Örneklerinin Alınması	49
4.4. Organ Ağırlıklarının Ölçülmesi.....	49
4.5. Histolojik Değerlendirmeler	49
4.6. TUNEL Metodu.....	51
4.7. Biyokimyasal Analizler	53
4.8. İstatistiksel Analiz	53
5. BULGULAR.....	54
5.1. Vücut Ağırlık Değişim Yüzdesi	54
5.2. Rölatif testis ağırlığı	55
5.3. Histolojik Değerlendirmeler	56
5.4. TUNEL Bulguları.....	62
5.5. Biyokimyasal Analizler	67
6. TARTIşMA	68
7. KAYNAKLAR	79
8. ÖZGEÇMİş.....	92

TABLULAR LİSTESİ

Tablo 1: Dioksin/Furan bileşiklerinin çeşitli ortamlarda ki yarılanma süreleri	27
Tablo 2: Farklı Canlılarda Dioksinin Yarılanma Ömürleri	31
Tablo 3: Maruz Kalınan Yüksek/Düşük Doz Dioksinin Yan Etkileri.....	32
Tablo 4: Sıçanlara verilen pelet yemin bileşimi	47
Tablo 5: Histolojik İnceleme İçin Doku Hazırlama Basamakları	50
Tablo 6: TUNEL boyaması işlem basamakları.	52
Tablo 7: Vücut ağırlık değişim yüzdesi	54
Tablo 8: Rölatif testis ağırlığı (gr)	55
Tablo 9: TUNEL Boyama, Semikantitatif Analiz	63
Tablo 10: Apoptotik indeks (%)	63
Tablo 11: Serum Testosteron Seviyeleri	67

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1: Testisin anatomik görünümü	10
Şekil 2: Primordiyal germ hücrelerinin göçü ve gonadal farklılık	12
Şekil 3: Testisin histolojik görünümü	16
Şekil 4: Spermatogenez	19
Şekil 5: TCDD'in kimyasal yapısı ve üç boyutlu görünümü	25
Şekil 6: Antioksidanların Sınıflandırılması	42
Şekil 7: Chrysin'nin molekül yapısı	44
Şekil 8: Vücut ağırlık değişim yüzdesi	55
Şekil 9: Rölatif testis ağırlığı (gr)	56
Şekil 10: Kontrol grubu. Seminifer tübül germinal epitelinde (↔) yer alan spermatogenik seri hücreleri ve Sertoli hücreleri ve interstisyel alanda yer alan Leydig hücreleri (→) normal yapıda gözlenmekte. Masson's Üçlü Boyası x 200	57
Şekil 11: Kontrol grubu. Normal görünümlü seminifer tübül germinal epiteli (↔) ve interstisyel Leydig hücreleri (→). Periodic Acid Schiff x 200	58
Şekil 12: TCDD grubu. Seminifer tübül epitelini oluşturan hücreler arasında ayrılmalar. Masson's Üçlü Boyası x 200	58

Şekil 13: TCDD grubu. Seminifer tübül epitelinde vakuolar dejenerasyon (v) ve atrofi (→). Periodic Acid Schiff x 200.....	59
Şekil 14: TCDD grubu. Seminifer tübül epitelinde vakuolar dejenerasyon (v) ve atrofi (*). Periodic Acid Schiff x 200.....	59
Şekil 15: TCDD grubu. Seminifer tübül epitel boyunda kısalma (→), multinükleer dev hücre (→), mayoz bölünmenin belli aşamalarında duraksamış hücreler (→) ayırt edilmekte. Periodic Acid Schiff x 200	60
Şekil 16: TCDD+CH grubu. Multinükleer dev hücre (→) ve heterokromatik çekirdekli germ hücreleri (→) dikkati çekmekte. Masson's Üçlü Boyası x 200 ..	60
Şekil 17: TCDD+CH grubu. Normal görünümlü seminifer tübüllerin arasında bazal membranında ayrılma(→) ve germinal epitelinde dejenerasyon (*) olan seminifer tübül. Periodic Acid Schiff x 200.....	61
Şekil 18: CH grubu. Normal görünümlü seminifer tübül germinal epiteli (→) ve interstisyel Leydig hücreleri (→). Masson's Üçlü Boyası x 200	61
Şekil 19: CH grubu. Normal görünümlü seminifer tübül germinal epiteli (→) ve interstisyel Leydig hücreleri (→). Periodic Acid Schiff x 200	62
Şekil 20: Kontrol grubu. Az sayıda TUNEL-pozitif apoptotik germ hücresi (→). TUNEL x200.....	64

Şekil 21: TCDD grubu. TUNEL-pozitif apoptotik germ hücreleri (→) ve seminifer tübül epitelinde dejenerasyon (*) ve germ hücreleri arasında ayrılma (→). TUNEL x200.....	64
Şekil 22: TCDD grubu. TUNEL-pozitif apoptotik germ hücreleri (→) ve multinükleer dev hücreler (→). TUNEL x200	65
Şekil 23: TCDD grubu. TUNEL-pozitif apoptotik germ hücrelerinin yaygınlığı (→) ve dejenere germinal epitel (*) dikkati çekmekte. TUNEL x200	65
Şekil 24: TCDD+ CH grubu. TUNEL-pozitif apoptotik germ hücreleri (→). TUNEL TUNEL x200	66
Şekil 25: CH grubu: Az sayıda TUNEL-pozitif apoptotik germ hücresi (→). TUNEL x200.....	66

KISALTMALAR LİSTESİ

- ABP** : Androjen bağlayıcı protein
- AhR** : Aril hidrokarbon reseptörü
- AI** : Apoptotik indeks
- ARNT** : Aril hidrokarbon reseptör nükleer translokator
- CH** : Chrysin
- DNA** : Deoksiribonükleik asit
- EDC** : Endokrin bozucu kimyasallar
- EPA** : Çevre Koruma Ajansı
- ETZ** : Elektron transport zinciri
- FSH** : Follikül stimüle edici hormon
- GnRH** : Gonadotropin serbestleyici hormon
- GSH-Px** : Glutasyon peroksidaz
- H&E** : Hematoksilen- Eozin
- HSC** : Hepatik yıldız hücreleri
- IARC** : Uluslar Arası Kanser Araştırmaları Kuruluşu
- IUPAC** : Uluslararası Temel ve Uygulamalı Kimya Birliği
- LH** : Luteinizan hormon
- LPO** : Lipid peroksidasyonu
- NADPH** : Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat- hidrojen
- NO** : Nitrik oksit
- NOS** : Nitrik oksit sentaz
- PAS** : Periyodik Asit Schiff

- PBS** : Phosphate buffered saline
- PCB** : Poliklorlu bifeniller
- PCDD** : Poliklorludibenzo-para-dioksinler
- PCDF** : Poliklorludibenzo furanlar
- PUFA** : Çoklu doymamış yağ asitleri
- PVC** : Polivinil klorür
- RNS** : Reaktif nitrojen türleri
- ROS** : Reaktif oksijen türleri
- OH⁺** : Hidroksil radikali
- ONOOH** : Peroksinitrit
- TCDD** : 2,3,7,8- tetraklorodibenzo-p-dioksin
- TDI** : Tolere edilebilir günlük alım miktarı
- TEF** : Toksik eşdeğerlik faktörleri
- TEQ** : Toksik ekivalent
- TUNEL** : Terminal deoxynucleotidyl transferase (TdT)-mediated deoxyuridine triphosphate (dUTP)-biotin nick end-labeling

1. ÖZET

2,3,7,8- tetraklorodibenzo-p-dioksin (TCDD) çevrede uzun süre kalıcılığı olan, yapısal olarak aynı mekanizmayla toksisite oluşturup, canlılarda biyolojik olarak benzer etkiler gösterebilen 75 farklı bileşik içeren dioksin ailesinin prototipidir. Bu bileşikler içinde en zehirli yapıda olması nedeniyle TCDD toksisite çalışmalarında standart olarak kullanılmaktadır. Araba egzozlarında ve sigara dumanında bulunan TCDD, insektisitlerin üretiminde, belediyelere ait katı atıkların yakılması esnasında bir yan ürün olarak ortaya çıkan çevresel bir kirleticidir. İnsanlar TCDD' yi çoğunlukla beslenme yoluyla almakta ve yıkılabilir özelliğinin düşük olması nedeniyle kanda ve yağ dokusunda birikme eğilimi göstermektedir. Uluslararası Kanser Araştırmaları Kuruluşu TCDD'yi grup I kanserojen olarak tanımlamıştır. TCDD, membran fosfolipitlerinden araşidonik asidin salınımını artırarak enflamasyona ve reaktif oksijen türleri (ROS)'nin üretimine yol açarak oksidatif strese dolayısıyla hücre hasarına neden olur.

Doğal bir flavon olan Chrysin (CH) antioksidan, antiinflamatuvar, antiapoptotik, antiviral özelliklere sahiptir. CH'nin damar koruyucu ve spasmolitik etkilere sahip olduğu bilinmektedir.

Bu alışmada TCDD'nin testis dokusunda meydana getirmesi muhtemel oksidatif hasara karşı, gcl bir antioksidan olan CH'nin etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Bu deneysel çalışmada 4 haftalık, ortalama 105-130 g ağırlıklarındaki 28 adet Wistar-Albino cinsi erkek sıçanlar kullanıldı. Sıçanlar grup I (Kontrol), grup II (TCDD uygulanan), grup III (TCDD + CH uygulanan) ve grup IV (sadece CH uygulanan) olmak üzere rastgele 4 gruba ayrıldı.

Grup II ve grup III'e haftada bir kez 25 µg/kg TCDD intraperitoneal (ip.) olarak uygulandı. Ayrıca grup III ve grup IV'e günlük 50 mg/kg zeytinyağında CH çözdürülerek oral gavaj yolu ile verildi.

5 haftalık deney süresi sonunda tüm gruplardaki sıçanlar tartıldıktan sonra anestezi altında dekapite edildi. Testis dokuları alınıp hızlıca tartıldı ve Bouin's solüsyonunda tespit edildi. Biyokimyasal incelemeler için kan örnekleri santrifüjlenip, elde edilen serumlar daha sonra yapılacak olan testosteron tayini için -20  C de saklandı. Testis dokularından histolojik inceleme için parafin bloklar hazırlandı. Parafin bloklardan 5 µm kalınlığında kesitler alındı. Alınan kesitler histokimyasal ve TUNEL teknikleri kullanılarak boyandı.

TCDD ve TCDD+CH gruplarındaki sıçanların ortalama vücut ağırlık değişim yüzdesinde ve rölatif testis ağırlıklarında, kontrol grubu ile

karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş gözlemlendi. CH grubu ile kontrol grubu arasındaki fark ise istatistiksel açıdan önemsiz bulundu.

Işık mikroskop incelemesinde, kontrol grubuna ait testis dokularında seminifer tübül germinal epitelini oluşturan spermatogenik seriye ait hücreler ve Sertoli hücreleri, interstisyel alan ve bu alanda yer alan Leydig hücreleri normal yapıda izlenirken TCDD uygulanan deneklere ait dokularda, germinal epitelde atrofi, vakuolar dejenerasyon, germ hücreleri arasında ayrılma, spermatid dev hücreleri ve bazı tübüllerde mayoz bölünmenin belli aşamalarında duraksama ayırt edildi. TCDD toksisitesine karşı koruyucu amaçla CH uygulanan gruba ait testiküler dokuda nispeten koruyucu etki sağlandı. Sadece CH uygulanan gruba ait kesitlerde testis dokusu kontrol grubu gibi normal görünümlü olarak ayırt edildi.

Apoptotik hücre ölümünün belirlenmesi için TUNEL tekniği kullanılarak yapılan boyamanın ışık mikroskopta incelenmesinde, kontrol grubu kesitlerinde TUNEL (+), TCDD grubunda TUNEL (+++) , TCDD + CH grubunda TUNEL (+), sadece CH uygulanan grupta ise TUNEL (+) yaygınlığında işaretlenme gözlemlendi.

TCDD ve TCDD+CH uygulanan gruplardaki sıçanların serum testosteron seviyelerinde, kontrol ve CH grubu ile kıyaslandığında anlamlı bir azalma gözlemlendi. CH grubu ile kontrol grubu arasındaki fark ise istatistiksel açıdan önemsiz bulundu.

Sonuç olarak yapılan bu deneysel çalışmada TCDD toksisitesinin serum testosteron düzeyini azalttığı spermatogenezi olumsuz yönde etkilediği saptandı.

Ayrıca seminifer tübül germinal epitelinde atrofi ve apoptotik hücre ölümüne yol açarak son derece önemli hasara yol açtığı gözlendi. Antioksidan özelliği ile ön plana çıkan CH'in bu olumsuz etkileri nispeten azalttığı saptandı. Bu bulgular, çevresel bir kirletici olan TCDD'nin erkek üreme sağlığını menfi anlamda etkileyebileceğini ve buna karşı nlemler alınması gerekliliğinin olduğunu göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: TCDD, Chrysin, TUNEL, Histokimya, Testis

**EFFECTS OF CHRYSIN ON TESTICULAR DAMAGE INDUCED
BY 2,3,7,8-TETRACHLORODIBENZO-p-DIOXIN (TCDD) DURING
PREPUBERTAL PERIOD**

2. ABSTRACT

2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) that persists in the environment for a long time is a prototype of dioxin family that contains 75 distinct compounds having similar biological effects on organisms and causing toxicity with same structural mechanism. TCDD has been employed as a standard in toxicity assays due to its characteristic of being the most toxic one among those compounds. TCDD existing also in exhaust and cigarette smoke is an environmental pollutant which is a by-product of insecticide production and solid waste combustion of municipalities. People generally take TCDD through nutrition and it tends to accumulate in blood and adipose tissues due to its low degradability. International Cancer Research Foundation has described TCDD as group I carcinogenic. TCDD causes inflammation by increasing arachidonic acid from membrane phospholipids and oxidative stress and also cell damage by producing reactive oxygen species (ROS).

Being a naturally occurring flavone, chrysin (CH) has antioxidant, anti-inflammatory, anti-apoptotic and anti-viral effects. It is also known that chrysin has vascular protective and spasmolytic effects.

The present study was designed to investigate the effects of CH on possible oxidative testicular damage induced by TCDD.

In this experimental study, 4-week-old 28 Wistar-Albino male rats about 105-130 g weight were used. The rats were grouped into four random groups,

i.e. Group I (Control), Group II (TCDD-treated), Group III (TCDD+CH-treated) and Group IV (only CH-treated).

Group II and III were treated with 25 µg/kg TCDD once a week intraperitoneally (ip.). In addition, Group III and IV were treated daily with 50 mg/kg CH dissolved in olive oil through gavage feeding.

After 5 weeks, all rats were weighed and decapitated under anaesthesia. Testicle tissues were weighed immediately and fixated in Bouin's solution. For biochemical examinations, blood samples were centrifuged and the serums were stored at -20°C for subsequent testosterone assay. Paraffin blocks from testicle tissues were prepared for histological examination. 5 µm-thick cross-sections of paraffin blocks were prepared and stained by using histochemical and TUNEL techniques.

When compared with the control group, the groups of TCDD and TCDD+CH showed statistically significant decrease in the percentage of body weight variation and relative testicle weight. The difference between the groups CH and control was found to be insignificant statistically.

During the microscope examination, Spermatogenic cells forming seminiferous tubule germinal epithelium and Sertoli cells, interstitial region and Leydig cells were found to have normal appearance in testicular tissues of the control group while atrophy in germinal epithelium, vacuolar degeneration, separation among germ cells, giant spermatid cells and arrest in certain stages of meiosis in some tubules were distinguished in tissues of TCDD-treated group. Relative protective effect was observed in testicular tissues of the CH-treated group against TCDD toxicity. Testicular cross-sections of only CH-treated group was observed normally as in control group.

Apoptotic cell death was examined by TUNEL staining and the labelling results were observed as TUNEL (+) for control group, TUNEL (+++) for TCDD group, TUNEL (+) for TCDD+CH and TUNEL (+) for CH group.

When compared to the control and CH groups, a significant decrease in serum testosterone levels of the rats treated with TCDD or TCDD+CH was observed. The difference between the control and CH group was found to be insignificant statistically.

In conclusion, it was determined that TCDD toxicity decreased serum testosterone level and had a negative impact on spermatogenesis. Moreover, it caused serious cell damage that contain atrophy in seminiferous tubule germinal epithelium and apoptotic cell death. Prominent with its antioxidant effect, CH relatively reduced these negative impacts. These findings suggest that TCDD, an environmental pollutant, can affect male reproductive health individually and there is necessity for taking precautions against this threat.

Keywords: TCDD, Chrysin, TUNEL, Histochemistry, Testis

3. GİRİŞ

3.1. TESTİS

3.1.1. Testis Anatomisi

Funiculus spermaticus'a asılı durumda bulunan bir çift testis, scrotumun içinde bulunur. Testisler 4-5 cm uzunluğunda, 2.5 cm genişliğinde, 3 cm kalınlığında ve ortalama 10-14 gr ağırlığındadır.

Testisin iki yüzü (**facies medialis** ve **facies lateralis**); iki kenarı (**margo anterior** ve **margo posterior**) ve iki ucu (**extremitas superior** ve **extremitas inferior**) bulunur.

Testisin ön kenarı, her iki yüzü ve uçları düz ve konveks olup, visseral periton ile kaplıdır. Arka kenarın yalnızca lateral kısmı peritonla örtülüdür. Peritonsuz olan medialine ise epididimis tutunur. Bu bölgeden damarların sinir ve kanal yapıları geçer.

Testis **lamina visceralis (epiorchium)**, **tunica albuginea** ve **tunica vasculosa** olmak üzere üç tabaka ile örtülüdür;

Lamina visceralis (epiorchium): Epididimisin büyük kısmı ile arka kenarının medial bölümü hariç, testisi saran ve bu iki kısmı birbirine bağlayan tabakadır.

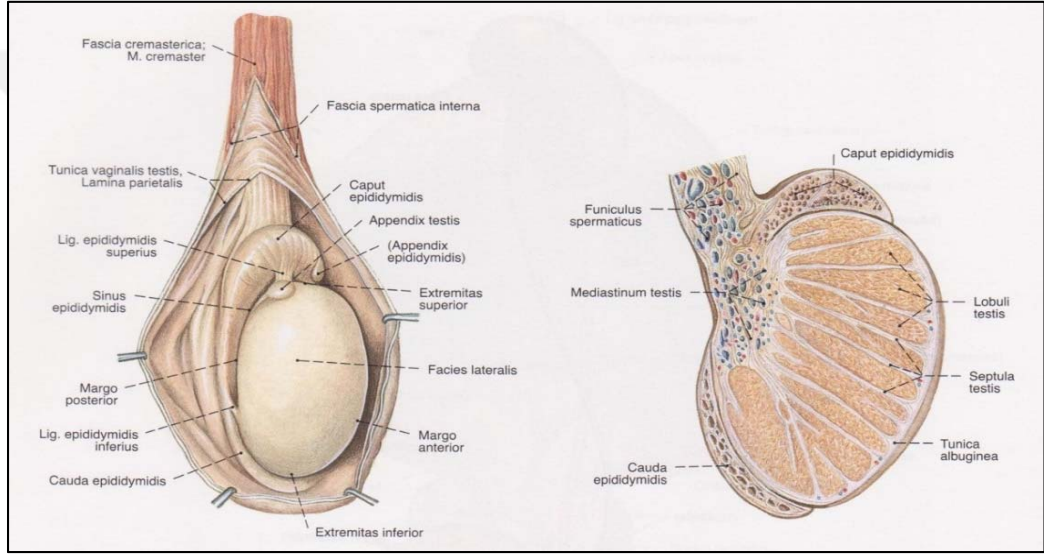
Testis ve epididimisin arka kenarlarından fascia spermatica internanın iç yüzüne geçen kısmına lamina parietalis adı verilir.

Tunica albuginea: Testisleri dıştan saran sıkı yapılı fibröz bir tabakadır. Bu tabakayı oluşturan beyaz fibröz demetler birbirleri içine rastgele uzanırlar. Arka kenarı hariç, dıştan tunica vaginalis testisin lamina visceralisi (epiorchium) ile çevrilidir. Peritonun bulunmadığı arka kenara ise epididimis tutunur. Bu kısımdan damar ve sinirler girip çıkar. Arka kenarda tunica albuginea tabakası, testisin içine doğru vertikal yarım bir bölme şeklinde kalın bir uzantı gönderir. Bu bölme mediastinum testis olarak adlandırılır.

Tunica vasculosa: Tunica albuginea tabakasının iç kısmını ve testisin içindeki tüm lobuli testisi saran damar ağı tabakasıdır. Damarlar arasında kalan kısımlar ise gevşek bağ doku yapısındadır. Tunica vasculosa tunica albuginea'nın iç yüzünü ve tüm bölmelerin yüzlerini döşer (1).

Septa radiata adı verilen oluşum mediastenden tunica albuginea'nın iç yüzeyine, sayıları 200-300 arasında değişen koni biçiminde lobülleri oluşturmak üzere tutunur. Bu lobüllerin her biri bir veya daha fazla sayıda seminifer tübülден oluşur. Tübüller yaklaşık 1 metre uzunluğundadır. Tübüllerin arasında bulunan gevşek bağ doku içerisinde testosteron üreten interstisyel hücreler (Leydig hücreleri) bulunur. Lobüllerin tepelerine gidildikçe seminifer tübüller düzleşirler

(tubuli rekti) ve **rete testisi** meydana getirirler. Rete testisten, 12-20 adet duktuli efferentes çıkar. Epididimise girdikten sonra duktuli efferentesler genişleyerek daha kıvrımlı hale gelirler ve lobülleri oluşturur. Bu lobüllerin her birinden çıkan kanallar, tek bir epididim kanalına drene olurlar. Yaklaşık 6 metre uzunluğunda olan bu kanalın çapı ve kalınlığı artarak **vaz deferensi** oluşturur (2) (Şekil 1).



Şekil 1: Testisin anatomik görünümü (3).

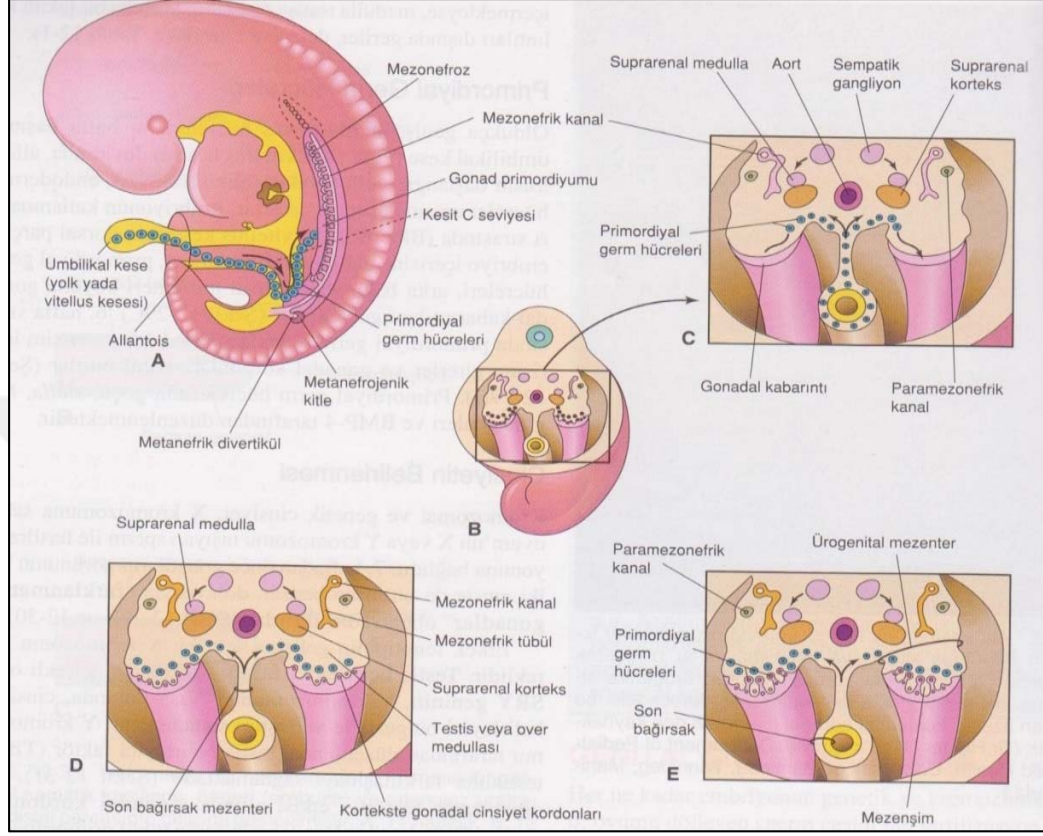
3.1.2. Testis Embriyolojisi

Cinsiyet fertilizasyon sonrası kromozomal olarak bellidir. Ancak intrauterin altıncı haftaya kadar cinsel açıdan farklılaşmamış gonad karma bir yapıdadır. İlkel cinsiyet bezleri ilk kez 5. ve 6. haftada ürogenital tümsek diye bilinen ilkel nefrik ve genital hücreleri içeren bir yoğunlaşma bölgesinde görünür.

Altıncı haftada gonadlar, yüzeyel germinal epitel ve internal blastemden oluşmaktadır. Blastem kitlesi bazal membrandan serbestlenen yüzeyel epitelin içe kısımlara doğru proliferasyonu ile meydana gelmektedir. Yedinci hafta içinde gonad, testis ya da overe özgü bir yapıya farklılaşmaya başlar.

Eğer farklılaşma testis yönünde olursa bez büyür, kısalır ve bir miktar kaudale yerleşir. Mezonefrozla testis arasındaki bağlantı gonadal mezenter dönüşür. Bu mezenter ise mezorşiyum diye bilinmektedir. Germinal epitel hücreleri daha alt kısımda yer alan mezenkimin içine doğru proliferasyon olur ve kordona benzer yapılar meydana getirir. Bu yapılar radyal olarak yerleşmiş olup, rete testisin ilkel hücreleri olarak ortaya çıkan yoğun bir blastem kitlesinin bulunduğu mezorşiyuma yaklaştıkça birleşirler. Testis kordonları 3-4 benzer kordona bölünür ve bu kordonlar da sonunda spermatozoaların üretileceği seminifer tübüllere farklılaşırlar. Fetal yaşamın üçüncü ayına doğru testisler retroperitoneal mesafede yalancı pelviste yerleşik hale geçerler. Testisin alt kısmından çıkan bir fibromüsküler bant geliştirmekte olan ön karın duvarı kaslarının arasından geçerek skrotal kabarıklığın subkutan dokusunda sonlanır. Periton testisin alt kısmının aşağısında, fibromüsküler bantın ön yüzeyi boyunca divertikül biçiminde fitikleşir, ve son olarak anterior karın kaslarının arasından skrotal torbaya ulaşır. Yedinci aya kadar testisler inguinal kanalın abdominal uç kısmında bulunmaktadır. Daha sonra

skrotal torbanın arkasından inguinal kanala girerek sekizinci ayın sonunda skrotal keseye ulaşır (4) (Şekil 2).



Şekil 2: Primordiyal germ hücrelerinin göçü ve gonadal farklılık (5)

3.1.3. Testis Fizyolojisi

Erkek ve kadında cinsel fonksiyonlar hipotalamus ve hipofizden (adenohipofiz) salgılanan hormonlar tarafından kontrol edilir. Kontrol, hipotalamustan salgılanan gonadotropin serbestleştirici hormon (GnRH) ile başlar. GnRH, adenohipofizden glikoprotein yapısında olan lüteinize edici hormon (LH) ve follikül stimüle edici hormon (FSH) salgılanmasını sağlar. LH ve FSH, adenohipofizin pars distalis kısmında bulunan gonadotrop hücrelerden salınır ve

gonadotropik hormonlar olarak bilinirler. LH, testislerde intersitisyel alanda bulunan Leydig hücrelerinden testosteron salgılanmasını uyarır. FSH ise spermatogenezisi uyarır (6).

GnRH 10 amino asit uzunluğunda bir peptid olup, hipotalamusun arkuat nükleusunda yer alan nöron gövdelerinden salgılanır. GnRH, hipotalamus-hipofiz portal sistemi damarlarına serbestlenir. Portal kan yoluyla ön hipofize taşınır ve LH ve FSH'nın salgılanmasını uyarır (7).

Sağlıklı erişkin bir erkekte her 1-3 saatte bir, birkaç dakika süreyle, pulsatil GnRH salınımı gerçekleşir (6).

Testislerden testosteron üretimi, sadece hipofiz bezinden salgılanan LH'nın uyarısı ile gerçekleşir. Ayrıca üretilen testosteron miktarı ile uyarıcı LH miktarı yaklaşık doğru orantılıdır.

Testislerde olgun Leydig hücreleri normalde postnatal birkaç haftaya kadar bulunur; daha sonra yaklaşık 10 yaşına kadar görülmezler. Ancak herhangi bir yaştaki erkek çocuğa saflaştırılmış LH verilmesi veya puberte döneminde LH üretiminin artması, testislerdeki fibroblastlara benzeyen interstisyel hücrelerin, işlevsel Leydig hücrelerine dönüşmesine neden olur (7).

GnRH, LH ve FSH salgısı testosteron tarafından negatif feedback ile düzenlenir. Testosteron salgısının artması LH üretimini hem hipotalamustan GnRH

üretimini inhibe ederek hem de adenohipofizi doğrudan etkileyerek baskılar. GnRH salgısının azalması, LH ve FSH salgısının azalmasına neden olur. LH'ın azalması da testosteron üretimini inhibe eder. Aksine testosteron düzeyinin azalması ise hipotalamustan GnRH salgısını artırır. Bu da LH ve FSH üretimini uyarır, böylece testosteron düzeyi yükselir (6).

3.1.4. Testis Histolojisi

3.1.4.1. Testisler

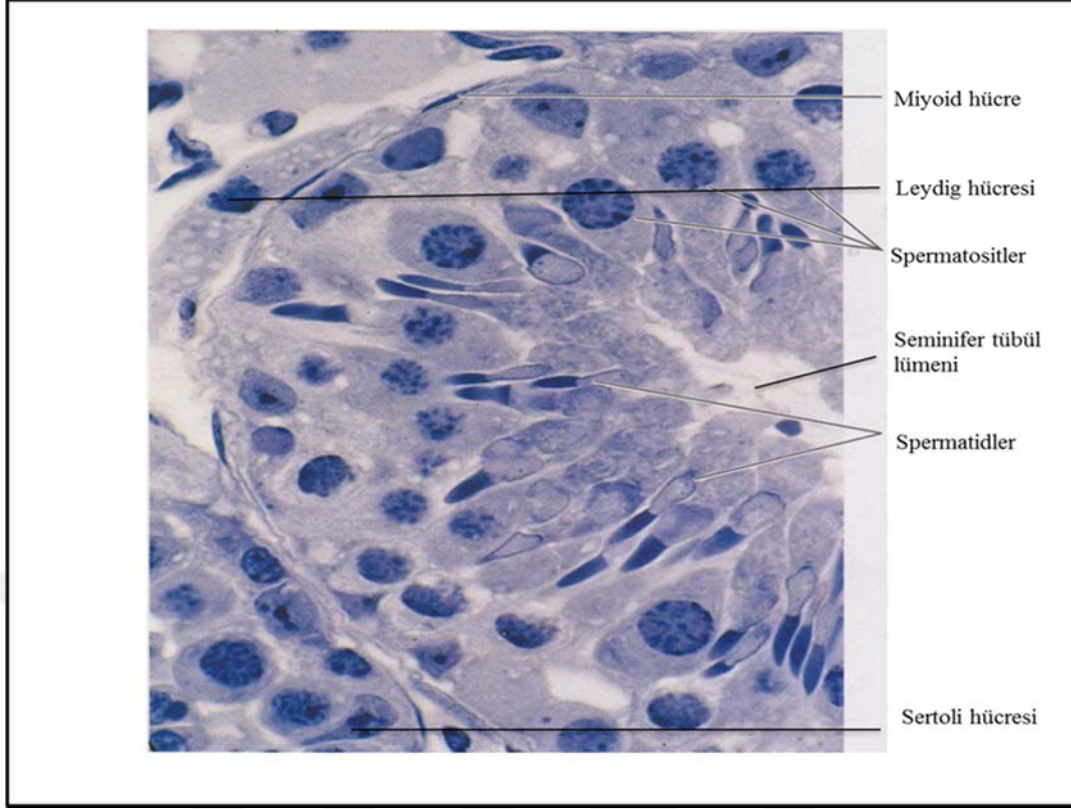
Erkek üreme sistemi; bir çift testis, çok sayıda boşaltım kanalı ve yardımcı üreme bezlerinden oluşur. Testis sürekli bölünen spermatogenik kök hücreleri içerir (8).

Her bir testisi dışarıdan saran tunica albuginea arka yüzden testisin iç kısımlarına doğru uzanarak mediastinum testisi meydana getirir. İnce bağ dokusu olan septum, mediastinum testisten içeriye doğru uzanır ve testisleri her biri 1 ile 4 sarmal yapıdaki seminifer tübülleri kapsayan yaklaşık 250 adet bölmeye veya testiküler lobçuklara ayırır. Her bir seminifer tübül de çoğalan germ hücreleri, çoğalma göstermeyen destek (sustentakular) veya Sertoli hücrelerini içeren çok katlı germinal epitel tabakasından oluşmaktadır. Seminifer tübülde, germ hücreler bölünerek sperm hücrelerine farklılaşır.

Her bir seminifer tübül, fibroblast, kas hücrelerine benzer hücreler, sinir hücreleri, kan ve lenfatik damarlar ile örtülüdür. Ayrıca, seminifer tübüllerin arasında interstisyel (ara) hücreler (Leydig) olarak adlandırılan epiteloit hücre kümesi de mevcuttur. Bu hücre kümeleri testosteron hormonu üretir ve salgılar (9).

3.1.4.2. Seminifer Tübüller

Seminifer tübüller yaklaşık olarak 150-250 μm çapında ve 30-70 cm uzunluğunda, kompleks yapıda çok katlı epitel ile örtülüdür. Bir testiste bulunan tübüllerin toplam uzunluğu yaklaşık 250 m civarındadır. Her bir tübülün son kısımlarında lümen daralır ve düz tübüller ya da tubuli rekti adıyla bilinen kısa segmentler halinde devam eder. Bu düz tübüller, seminifer tübülleri rete testis adı verilen, epitel ile dşeli kanalların oluşturduğu yapıya bağlar. Seminifer tübüller fibröz bağ dokusu kılıfı, bazal lamina ve seminifer epitelden oluşur (şekil 3).



Şekil 3: Testisin histolojik görünümü (5).

3.1.4.3. Sertoli Hücreleri

Sertoli hücreleri spermatogenik serideki hücreleri kısmi olarak saran piramidal şeklindeki hücrelerdir. Tabanları bazal laminaya tutunur, apikal kısımları ise sıklıkla seminifer tübülün lümenine uzanır. Sertoli hücreleri birbirlerine sıkı bağlantılarla bağlanmışlardır (10).

Sertoli hücreleri birçok önemli görev üstlenmektedir:

- Gelişmekte olan sperm hücrelerine (spermatid) besin, fiziksel destek ve koruma sağlamak,

- Spermatogenezis esnasında meydana gelen sitoplazma artıklarını (residual cisimcikler) fagosite etmek,
- Seminifer lümen içerisine olgun spermin atılmasını sağlamak,
- Spermin beslenmesi ve boşaltım kanalları içerisinde transportu için gerekli olan fruktozdan zengin testiküler sıvıyı salgılamak,
- Testosterona bağlanarak konsantrasyonunu arttıran androjen bağlayıcı proteini (ABP) üretmek,
- Hipofizden follikül uyarıcı hormon (FSH) salınımını önleyen inhibin hormonunu üretmek.
- Gelişim sırasında Müller kanallarının gerilemesini sağlayan glikoprotein yapısında Müllerian inhibe edici hormonu (AMH) üretmek (9).

3.1.4.4. Leydig Hücreleri

İntersitisyel alanda eozinofilik Leydig hücreleri yer alır. Bu hücrelerin sitoplazması köpüksü bir görünüme sahiptir. Bu görünümünden, testosteron sentezi için depolanan kolesterole bağlı olarak yüksek düzeyde lipit sorumludur. Büyük, polihedral yapıdaki bu hücrelerde bir ya da iki nükleolus içeren bir nükleus mevcuttur. Hücrelerin yüzeyinde çok sayıda mikrovillus bulunur. Bu hücreler çoğunlukla fenestratalı kapiller ve küçük lenfatiklere yakın konumda yerleşmiştir.

Sitoplazmalarında steroid salgılayan hücelere özgü bir özellik olan yoğun düz endoplazma retikulumu içerirler (11). Bu hüceler, mitokondrilerde ve düz endoplazmik retikulumda bulunan enzimler aracılığıyla testosteronu üretirler (12).

3.1.4.5. Spermatogenez

Primordiyal germ hüceleri testise göç ederek spermatogonyum olarak isimlendirilen olgunlaşmamış germ hücelerine dönüşürler. Spermatogonyumlar puberte ile birlikte mitoz bölünmeler geçirerek proliferasyon olurlar ve olgun sperm oluşturmak üzere farklılaşırlar (7).

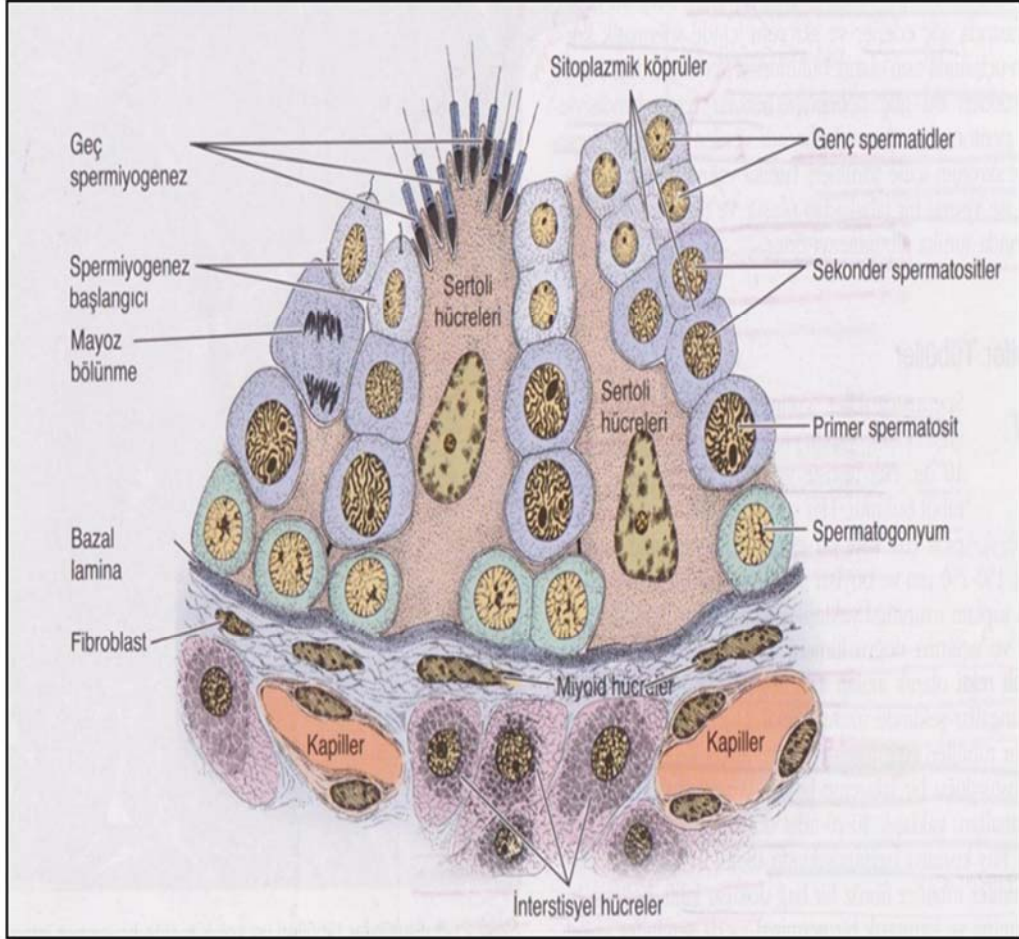
Sperm üretimi seminifer tübüllerde gerçekleşir. Seminifer tübüllerin duvarını germ hüceleri (spermatogonyum) ve Sertoli hüceleri döşer. Germ hüceleri sperm yapımından sorumludur. Sertoli hüceleri ise germ hücelerin etrafında destek dokusunu oluşturur (6).

Spermatogenezin ilk evresinde, spermatogonyumlar seminifer tübülün lümen merkezine doğru Sertoli hüceleri arasına göç ederler. Sertoli hüceleri tüm tübül lümeni boyunca gelişmekte olan spermatogonyumların etrafını sarak onlara zengin sitoplazmik ortam sunar (7).

Germinal epitel içinde çok sayıda spermatogenezis döngüsü eş zamanlı olarak gerçekleşir. Spermatogenetik döngünün süresi ortalama 74 saattir. Spermatogenez süresince gelişimin aynı noktasındaki germ hücre ağları

sitoplazmik köprülerle bağlı olup spermatogenez sürecinden birlikte geçerler (4)
(Şekil 4).

Germ hücreleri mayoz bölünme sonucunda 46 kromozumlu diploid (2n) halden 23 kromozumlu haploid (1n) hale gelir. Böylece sperm, yine 23 kromozom içeren haploid (1n) yumurta hücresi (ovum) ile birleşerek 46 kromozumlu yeni bir bireyin (zigot) oluşmasını sağlar (6).



Şekil 4: Spermatogenez (12)

3.1.4.6. Spermiyogenez

Spermatidden spermiyum oluşum s¼recidir. Erken d¼nemde yuvarlak şekilli bir h¼cre olan spermatid, spermiyogenez boyunca değişime uğrayarak kuyruklu ve hareketli olan spermiyuma farklanır. Sertoli h¼creleri spermiyogenezde ¼nemli rol oynarlar. Spermiyogenez d¼rt kısımda incelenir:

- 1. Golgi D¼nemi:** ok sayıdaki golgi kompleksinin bulunduğu b¼lgede PAS pozitif gran¼llerin birikmesi ile karakterizedir. Glikoproteinden zengin gran¼ller n¼kleus membranının yakınındaki membranla sınırlı akrozomal vezik¼l ile birleşir. Akrozomal vezik¼l¼n bulunduğu y¼re, gelişen spermiyumun ¼n kutbunu belirler. Bu d¼nemde sentriyoller de arka kutba doğru g¼ ederler. Burada spermiyum kuyruğunun aksonemini oluşturacak olan mikrotubuller sentriyollerden başlayarak yapılanmaya başlarlar.
- 2. Kep D¼nemi (şapka D¼nemi):** Akrozomal vezik¼l n¼kleusun ¼n b¼l¼m¼n¼ kaplayacak şekilde genişleyip şapka şeklinde bu b¼l¼m¼ sarar (akrozomal kep). N¼kleus membranının bu tarafa bakan kısmının porları kaybolur, membran kalınlaşır. N¼kleus yoğunlaşır.
- 3. Akrozom D¼nemi:** Bu d¼nemde belirgin şekil değişikliği yaşanır. Spermiyum başı Sertoli h¼crelerinin sitoplazmasının derinlerine g¼m¼l¼r. Kuyruk flajellumu iyice uzayarak l¼mende belirgin olarak g¼r¼lmeye başlar. Yoğunlaşmış n¼kleus yassı

hale gelerek uzar. Akrozom, apikal plazma membranına iyice yaklaşır. Sitoplazmik mikrotubuller akrozomdan spermatidin arka kutbuna uzanarak silindirik kılıfı oluştururlar. Flajellum, oluşumundan sorumlu olan sentriollerden kaynaklanan 9 adet kalın lif aksonemin mikrotubul çiftlerinin periferinde dış kalın lifleri oluşturur. Bu liflerin başladığı bölge boyun (bağlayıcı parça) olarak isimlendirilir. Plazma membranı uzayan flajellum yüzeyini kaplamak üzere arkaya doğru uzarken, manşet kaybolur. Mitokondriyonlar boyun bölümünde ve distale uzayan bölgede dış kalın liflerin çevresini sıkı bir kılıf gibi sarmalarlar. Mitokondriyon kılıfı ile karakterize bu bölüm kuyruğun orta parçasıdır. Orta parçanın distalinde iki longitudinal fibröz kolon ve çok sayıda bağlayıcı fibröz halka içeren fibröz kılıf esas parçanın dış yoğun liflerini çevreleyerek flajellumun ucuna kadar ilerler. Bu bölge esas parça olarak isimlendirilir. Esas parçanın distalinde kalan ve sadece aksonemin mikrotubullerini içeren kısa son bölüm ise son parça olarak isimlendirilir.

- 4. Olgunlaşma Dönemi:** Sitoplazma miktarında azalmanın gerçekleştiği terminal dönemdir. Fazla sitoplazmayı içeren bölüm boğumlanıp kopar, Sertoli hücreleri tarafından fagosite edilerek ortadan kaldırılır. Spermatidler birbirleri ile olan bağlantılarını kaybederler ve Sertoli hücrelerinden ayrılarak lümeneye atılırlar (13).

3.2. TCDD (2,3,7,8- tetraklorodibenzo-p-dioksin)

3.2.1. Dioksin ve Benzeri Bileşikler

İnsanlar sistemik olarak devamlı organik kirleticilere maruz kalmaktadırlar. Bu çevresel kirleticiler devamlılıkları, toksisite düzeyleri ve hareketlilikleri nedeniyle sağlığa zarar veren kimyasal maddelerdir (14). Kimyasal yapıları ve canlılar üzerindeki etkileri benzerlik gösterdiğinden bu bileşikler dioksinli veya dioksin ve benzeri bileşikler olarak isimlendirilirler. Poliklorodibenzo-para-dioksinler (PCDD), poliklorodibenzo furanlar (PCDF) ve poliklorlu bifeniller (PCB) suda çok az çözünme özelliğinden, metabolik ve çevresel yıkımlara dayanıklı, doğada kararlı durumda bulunan, yüksek derecede zehirli, geniş yayılım alanına sahip çevresel kirleticilerdir (15). Bu zamana kadar 75 PCDD, 135 PCDF ve 209 PCB kimyasal bileşik tanımlanmıştır (16).

Dioksinler, kimyasal içerikleri ve toksik özellikleri birbirleriyle ilişkili, 75 farklı dioksin bileşiği mevcut olup en zehirli yapıda 2,3,7,8- tetraklorodibenzo-p-dioksin (TCDD) olan bir guptur (17) ve genellikle bu bileşik dioksinlerin toksisite çalışmalarında standart olarak kullanılmaktadır (18).

TCDD çevrede uzun süre kalıcı özellikte olan, yapısal olarak aynı mekanizmayla toksisite oluşturup canlılarda biyolojik olarak benzer etkiler gösterebilen geniş bir ailenin prototipidir. Bu bileşikler gerçekte herhangi bir amaç

için üretilmeyip, endüstriyel üretim ve başta atık yakma gibi yanma işlemlerinin yan ürünü olarak ortaya çıkan, son derece zehirli yapıda çevreye salınırlar (19).

TCDD'ye maruz kalma bireylerde çeşitli toksisiteler meydana getirmektedir. Bu toksisitelerin derecesi türler ve bireyler arasında büyük ölçüde farklılık göstermektedir. Yüksek dozda TCDD'ye maruz kalan insanlarda görülen en belirgin toksisitelerden biri klorakne olarak bilinen deri hastalığı iken, laboratuvar hayvanlarında toksik etkilere karşı farklı düzeyde duyarlılıklar ve tepkiler geliştiği görülmektedir (20). Üzerinde en fazla çalışma yapılan TCDD maruziyeti sonrasında laboratuvar hayvanlarında bu toksik etkilerin başında hızlı kilo kaybı ve devamında ölüm ile karakterize olan zayıflık sendromu (wasting)'dur (21).

3.2.2. Toksik Eşdeğer Faktörleri ve Toksik Eşdeğerlikler

Toksik Eşdeğerlik Faktörleri (TEF); WHO (Dünya Sağlık Örgütü) tarafından dioksin ve benzeri bileşiklerin toksisitelerini belirlemek amacıyla ve bu bileşiklerden TCDD temel alınarak her bir dioksin bileşiklerine verilen ortalama zehirlilik faktörü olarak tanımlanmaktadır. TEF değeri; bileşiğe maruz kalma süresinin uzun ya da kısa olması, in vivo ve in vitro biyokimyasal analizler göz önünde bulundurularak belirlenmektedir (22).

TEF'nde bir eşitlikle tüm dioksin türevlerinin ortak toksisite etkileri bir birime çevrilmekte ve aynı örnekteki benzer zehirli maddelerin ortak zehirli etkileri, toplam zehir eşdeğerliğini ifade etmek üzere toplanmaktadır. Seçilen örneğin toplam zehir eşdeğerliliğini tanımlayabilmek için Çevre Koruma Ajansı (EPA), 2 aşamalı bir yöntem geliştirmiştir:

1. Aşamada; kullanılan eşitlikle, bütün dioksin benzeri bileşiklerin ortak zehirli etkileri, tek bir birime çevrilerek Toksik Ekivalent değeri elde edilir.

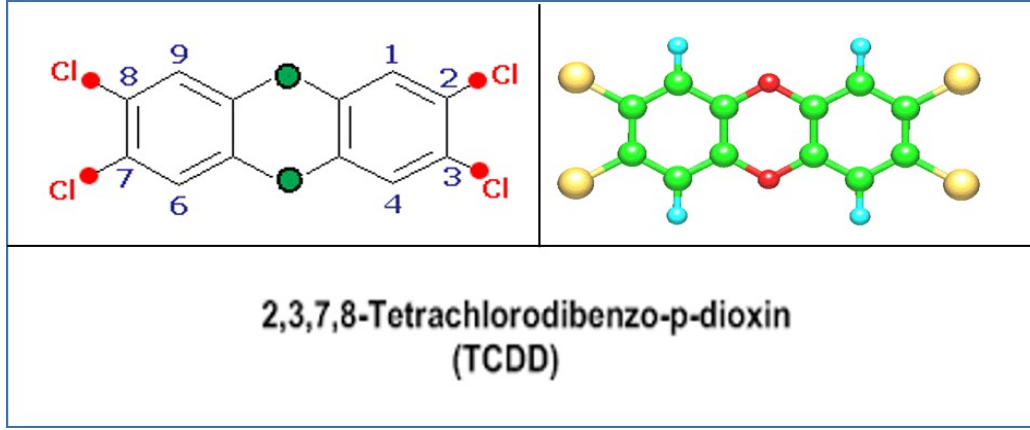
2. Aşamada; aynı örnekteki benzer toksik maddelerin ortak zehirli etkileri toplanarak toplam zehir eşdeğerliliğini ifade eder.

TEQ= Toksik Ekivalent

TEF= Toksik Eşdeğerlilik Faktörü

- 1) $TEQ = (\text{Dioksin Derişimi}) \times (\text{Zehirlilik Faktörü})$
- 2) Toplam TEQ= Örnekteki tüm zehirli TEQ'ların toplamı

Dioksin ve dioksin benzeri bileşiklerin toksik etkinliğini, o bileşiğin boyutu ve biçimi belirler. Makromoleküldeki klor sayısı ve konumu bileşiğin toksisitesinde önemli bir belirteç olup, dioksin molekülünün 2,3,7, ve 8 bağlarında klor atomunun bulunması bileşiğin zehirliliğini belirler (Şekil 5). Dioksin ve furan bileşiklerinin yapılarında bulunan klor atomunun konumlarının benzer şekilde yerleşiminden dolayı, genellikle toksisite etkinlikleri de benzerlik göstermektedir (17).



Şekil 5: TCDD'in kimyasal yapısı ve üç boyutlu görünümü (23)

3.2.3. Dioksin Kaynakları ve Oluşumu

Dioksin, organik klorlu bileşikler olarak bilinen, yüzlerce klorlu kimyasalın üretimi sırasında 'ara' ya da 'yan ürün' olarak ortaya çıkar (24). TCDD çevrede geniş yayılım gösteren kalıcı bir organik kirleticidir (25). TCDD, polivinil klorid (PVC)'lerin düşük sıcaklıkta yakılması ve pestisit üretimi gibi endüstriyel süreçlerin yan ürünü olarak ekosisteme salınan zehirli, organik bir maddedir (26).

TCDD ev ısıtma sistemlerinde, araba egzozlarında, sigara dumanında (27), bitki ve böcek öldürücü maddelerin imalatının bir yan ürünü olarak, ağaç pulpası ve kâğıt fabrikalarında klorinle ağartma işleminde, medikal atıkların imha edilmesi ve belediyelere ait katı atıkların yakılması esnasında ortaya çıkan kalıcı bir çevre kirleticisidir (27, 28).

Ayrıca dioksinler yüksek derecedeki sıcaklıklarda (250-450 °C), bazı doğa olayları ve endüstriyel işlemler esnasında da açığa çıkar ve bu durum termal süreç

olarak tanımlanır (29). Bu süreçte dioksin oluşumuna neden olan kaynaklar arasında özellikle evsel katı atıkların, kömür, odun ve petrol ürünlerinin, sentetik yağlı boya ile kaplanmış maddelerin, transformatör yağlarının ve klorla beyazlatılan ürünlerin yakılmasıyla (30, 31), bazı metallerin eritilmesi, volkanik patlamalar, orman yangınları, fosil yakıtların kullanımı, asfalt üretimi ve PVC endüstrisi sayılabilir (22, 32). Dioksinler 250 °C'nin üzerindeki sıcaklıklarda organik materyallerin yanması ile oluşur ve 800 °C'nin üzerindeki sıcaklıklarda ise hızlıca yıkımlanır (33).

TCDD ve PCB'ler dünya çapında karmaşık bileşikler olarak bulunan kalıcı ve hidrofobik bir yapıya sahip organik kirleticilerdendir ve TCDD, yıkılmaya dirençli olup tahmini 7,6 yıllık yarılanma ömrü ile doğada birikme eğilimindedir (34) (Tablo 1). Bu nedenle Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı (IARC), TCDD'yi muhtemel insan kanserojeni sınıfından, insan kanserojeni sınıfına yerleştirmiştir (32). İnsanlar bu kirleticilere gıda, su ve solunum yoluyla maruz kalırlar (35). Havaya, toprağa ve sulara karışan dioksinler hayvanlara beslenme yoluyla geçerek vücutlarında birikir ve hayvansal gıdalarla insanlara taşınırlar. Dioksinler gerek kimyasal yapılarının sabit olması ve gerekse doğal yapılarının lipofilik olması nedeniyle çevre ve insanlar açısından her zaman potansiyel tehlike oluştururlar. Bu özelliklerinden dolayı dioksin ve benzeri bileşikler göller, nehirler

ve okyanusların dibindeki sedimentlerde de bulunabildiğinden dolayı diğer bir önemli depolanma alanıdır (18).

Tablo 1: Dioksin/Furan bileşiklerinin çeşitli ortamlarda ki yarılanma süreleri (23)

	Hava	Su	Toprak	Sediment
PCDD	2 gün- 3 hafta	2 gün- 8 ay	2 ay- 6 yıl	8 ay- 6 yıl
PCDF	1-3 hafta	3 hafta- 8 ay	8 ay- 6 yıl	2-6 yıl

3.2.4. Dioksinin Etki Mekanizması

TCDD, özellikle evrimsel süreç boyunca oldukça korunmuş ve temel olarak sarmal-halka-sarmal yapısına sahip bir transkripsiyon faktörü olan aril hidrokarbon reseptörünün (AhR) etkili bir ligandır (36). AhR her yerde bulunan sitozolik bir proteindir, AhR normalde sitoplazmada bulunan şaperon proteinlerine bağlı iken, ligand bağlanmasıyla aktifleşerek çekirdeğe geçmekte ve yer değiştirerek daha büyük boyutlu aktif Aril Hidrokarbon Reseptör Nükleer Translokator (ARNT) proteini ile birleşmektedir (37, 38). AhR/ARNT dimeri, spesifik DNA cevap elementlerine (AHRE-I ve AHRE-II) bağlanarak belirli genlerin transkripsiyonunu düzenlemektedir (37). AhR proteinin TCDD toksisitesine aracılık ettiğini gösteren önemli kanıtlar bulunmaktadır: AhR-nakavt fareler, karaciğer dokusunda ARNT sentezi engellenmiş fareler veya hatalı AHRE- bağlanma alanına sahip AhR

proteini bulunan fareler, yabani tiplere kıyasla, TCDD zararından kaynaklanan fenotipik etkileri önemli ölçüde düşük düzeyde sergilemişlerdir (39). Bunun yanı sıra TCDD-AhR bağlanması sonucunda AhR'nin hedef geni olan ve yoğun olarak karaciğerde sentezlenen CYP1A1 aktive olmaktadır (40). CYP1A1 geninin TCDD'yi metabolize etmesi süresince gerçekleşen metabolik olaylar oksidatif stres koşullarının artmasına neden olan mutajenik metabolitleri ve reaktif oksijen türlerini (ROS) üretmektedir (41).

Ca^{2+} düzeyinin erken artışının da TCDD'nin neden olduğu toksik etkilere katkıda bulunduğu göz ardı edilemez. Ca^{2+} düzeyinin erken artışı, fosfolipaz A2'nin aktivasyonu ve sonrasında membran fosfolipitlerinden araşidonik asidin (AA, n6 yağ asidi) salınımıyla sonuçlanmaktadır (42). Araşidonik asit, COX-2 ve sitokrom p450 enzimleri için substrat olarak hareket etmekte ve araşidonik asidin salınımı enflamasyona neden olan eikosanoidlerin üretimiyle sonuçlanmaktadır. Bu nedenle, hem reaktif oksijen türleri (ROS) hem de enflamasyona neden olan eikosanoidler, TCDD ile uyarılan oksidatif stres ve toksik tepkiler üzerinde önemli bir role sahiptir (43).

3.2.5. Dioksinlerin Toksikokinetikleri

3.2.5.1. Emilim ve Dağılımı

Canlılar dioksinlere besin, su, solunum ve temas yolu ile maruz kalmaktadır (24). Dioksinler vücuda alınan ve emilim oranı bileşiğin türüne, emilim yoluna ve ortama bağlı olarak değişen bileşiklerdir (44). Dioksin zehirlenmelerinde bulaşma %90 oranında ağız yolu ile olmakla birlikte fabrika patlamaları, orman yangınları gibi durumlarda her üç yoldan bulaş söz konusu olabilir. Dioksin bileşikleri yağda iyi çözündüklerinden ortamdaki yağ oranı ile emilim arasında pozitif yönde bir ilişki vardır. Bu zamana kadar yapılan deneylere dayanarak laboratuvar memelilerinde ve insanlarda en uzun TCDD eliminasyonu, yarılanma ömrüne ve vücut ağırlığına bağlı olduğu bildirilmiştir. İnsanlar TCDD' yi çoğunlukla beslenme yoluyla almakta ve yıkılabilir özelliğinin düşük olması nedeniyle alınan TCDD kanda ve yağ dokuda değişmeden kalmaktadır. Dioksinler vücuda alındıktan sonra temel olarak kan, kaslar, karaciğer ve yağ dokuda dağılırlar, fakat bu bileşikler özellikle karaciğer ve yağ dokuda birikme özelliği gösterirler (25, 45, 46).

Amerikan Çevre Örgütü (EPA) dioksin ve dioksin benzeri maddelerin insanların DNA yapısında değişim yapması sonucunda, bağışıklık sisteminin bozulduğunu, genotoksik tipte kanserlerin oluşumuna yol açabildiğini ve enfeksiyon kaynaklı hastalıklara insanların daha duyarlı hale geldiğini belirtmiştir.

Dioksinler yağlı tüm doku tiplerinde muhafaza edilir. En yüksek dağılımı karaciğer ve beyaz yağ dokusunda, bağırsaklar üzerindeki yağ hücrelerinde ya da düşük oranda beyin yağ dokusunda birikmesi sonucunda karaciğerde, pankreasta ve kalpte hastalıklara neden olduğu belirlenmiştir (46, 47).

3.2.5.2. Dioksinin Atılımı

Dioksinlerin temel atılımı dışkı yolu ile olup, idrarla atılan oran dışkıdakine göre oldukça düşüktür. Erkek bir gönüllüde, 105 ng. TCDD alımından sonra emilimin $> \% 87$ 'ye ulaştığı görülmüştür. Absorbe edilmeyen TCDD 3 gün içerisinde dışkı ile atılır. Ancak dışkı tarafından absorbe edilen oranının eliminasyonu $\% 0,03$ kadar düşüktür (48).

Lipofilik özellik gösteren ve insan vücudunda daha çok yağlı gıdalar yolu ile (et, yumurta, tam yağlı süt, tereyağı vb.) kontamine olan dioksinlerin yarılanma ömürlerinin insanlarda 7-8 yıl, maymunlarda 1 yıl, sığırdaki 16,5 hafta, domuzlarda 94 gün, farelerde 12-30 gün arasında değiştiği bildirilmektedir (49, 50) (Tablo 2). WHO tarafından PCDD ve PCDD/F'ler 1. Sınıf kanserojen maddeler içerisinde sayılmış ve insan için günlük tolere edilebilecek dozun 1-4 pg TEQ/kg olduğu rapor edilmiştir (22).

Tablo 2: Farklı Canlılarda Dioksinin Yarılanma Ömürleri (49, 50)

Bulunduğu Canlı	Yarılanma Ömrü
İnsan	7-8 yıl
Maymun	1 yıl
Sığır	16,5 hafta
Fare	12-30 gün

Laktasyon, vücuttan dioksin atılmasını hızlandıran birkaç önemli olaylardan birisidir; fakat bu durumda da bebeğin bu zehirli kimyasala maruz kalması ile olumsuz bir etki söz konusudur. Emzirme süresince, anne sütünün yağında bulunan dioksin, anneden çocuğa geçmekte, hatta bebekler aldıkları bu anne sütü nedeniyle vücutlarında, annelerinden daha yüksek oranda dioksin bulunabilir (51, 52).

3.2.6. Dioksinlerin Zehirlilikleri

Dioksin ve benzeri bileşiklere maruz kalınması sonucunda oluşan yan etkilerin başında sindirim, karaciğer ve göğüs kanserleri, gelişme bozuklukları, wasting sendromu (zayıflık/israf sendromu), lenfoid, klorakne, hepatotoksisite, yarı damak, kusurlu böbrek oluşumu gibi doğumsal anomaliler ile immüntoksisite, nörotoksisite ve kardiyotoksisite, mide bulantısı, solunum

güçlüğü, üreme bozuklukları, yüksek tansiyon ve astım gibi hastalıkların meydana geldiği belirtilmiştir (53) (Tablo 3).

Tablo 3: Maruz Kalınan Yüksek/Düşük Doz Dioksinin Yan Etkileri (53)

Yüksek Doz Etkileri	Düşük Doz Etkileri
Klorakne	Gelişimsel problemler (motor hareketler/hafıza)
Hepatotoksisite	Endokrin sistem bozuklukları
Üreme bozuklukları	Erkek/kadın doğum oranında azalma
Wasting Sendromu	Solunum problemleri
İmmünosupresyon	Dolaşım bozuklukları
Doğum anomalileri	
Deney hayvanlarında kanser	

Hayvanlarda gözlemlenen toksik etkiler oldukça çeşitlidir. Dioksinler, spesifik olarak wasting sendromu (zayıflık/israf sendromu), hepatotoksisite, klorakne, enzim indüksiyonu, iç salgı dengesizlikleri, karaciğerde vitamin A depolarının azalması, lipid peroksidasyonu, nörotoksisite gibi toksik etkiler oluşturmuştur (54). Zayıflık sendromu, kemirgen laboratuvar türlerinin birçoğunda görülmekle birlikte bütün hayvanların hastalıktan etkilenme derecesi eşit değildir.

Farklı ırklar arasındaki varyasyonu gösteren en iyi tanımlanmış modellerden biri TCDD-duyarlı Long-Evans (Turku/AB) sıçanlar (L-E; LD₅₀ 9.8- 17.7 µg/kg) ile TCDD-dirençli Han/Wistar (Kuopio) sıçanlar (H/W; LD₅₀ > 9600 µg/kg) arasındaki farklılıktır (55). H/W ırkında özellikle zayıflık sendromuna ve letaliteye karşı görülen direnç AhR proteininin transaktivasyon alanında meydana gelen bir nokta mutasyonu ile ilgilidir (56).

TCDD endokrin sisteme zarar veren çevresel bir kirletici olduğundan, erkek üreme sistemi üzerinde toksik etkilere sebep olmaktadır (57). Erkek üreme organları dioksinlere oldukça duyarlıdır. TCDD'ye maruz kalmanın sperm sayısında azalma, dioksin toksisitesinin en hassas noktalarından biri olup fertilité de düşüşe neden olduğu belirtilmektedir (58). Birkaç büyük meta-analiz çalışmasına göre semen kalitesi, yarım yüz yıllık dönemde bazı gelişmiş ülkelerde azalmaktadır (59). Erkek üreme sağlığındaki bu bozulma, çevresel endokrin bozucu kimyasallara (EDC) sürekli maruz kalmayla ilişkilendirilmektedir (60, 61). İnsan üreme sistemi üzerinde potansiyel zararlı etkilere sahip bir grup EDC, dioksinler ve dioksin benzeri bileşiklerdir (62). Birçok EDC' nin kadın üreme sistemini ve özellikle yumurtalıkları hedef aldığı bilinmektedir. EDC' ye maruz kalma infertilite, erken yumurta yetmezliği ve anormal cinsiyet steroid hormon seviyeleri gibi birçok üreme sağlığı sorunlarına neden olur (63).

Karaciğerde TCDD toksisitesinin kaba işareti, parenkimal hepatositlerde AhR aktivasyonuna dayandırılır. Ayrıca, karaciğerde parenkimal olmayan hücrelerde TCDD tedavisinin sonuçları hakkında daha az bilgi bilinmektedir. Hepatik yıldız hücreler (HSC) A vitamini depolayan parenkimal olmayan hücrelerdir. Karaciğer hasarına bağlı olarak, aktif HSC'ler bu depolama yeteneğini kaybeder ve bunun yerine pro-inflamatuar mediatörler ve tip I kollagen üretimi yoluyla inflamasyon ve fibrozun geliştirilmesi ve korunmasında işlev görürler. TCDD' ye maruz kalmanın karaciğer retinoid homeostazını bozduğu ve karaciğerdeki hücre dışı matriksin şeklini değiştirerek düzensizleştirdiği rapor edilmiştir (64).

Dioksin maruziyeti sonucunda tüm doku ve organlarda kanser riskinin arttığı özellikle akciğer ve yumuşak doku sarkomlarında artışların mevcut olduğu Amerika Birleşik Devletleri Çevre Koruma Ajansı (US-EPA) ve WHO raporlarında bildirilmektedir (22, 65, 66).

3.2.7. Tolere Edilebilir Doz

TCDD için, tolere edilebilir günlük alım miktarını (TDI) Dünya Sağlık Örgütü (WHO) 10 pg/kg olarak belirlemiştir. Fakat yapılan çalışmalarda bu bileşiklerin uzun süreli alınmalarına bağlı olarak, vücutta biriktiği ve zehirli

etkisinin daha sonra ortaya çıkmasından dolayı dioksinli bileşiklerin TDI değerini 1-4 pg/kg TEQ olarak yeniden belirlemiştir (22, 67).

3.2.8. Toksikite Durumunda Tedavi

Dioksin birikiminin engellenmesi veya uzaklaştırılması amacıyla çeşitli araştırmalar yapılmıştır. Bu araştırmalar da dioksine maruz kalan farelere 10 gün boyunca clenbuterol katkılı gıdalarla beslenildiğinde yağ dokusunda bulunan toplam dioksin miktarında %30 oranında azalma görülmüştür. Başka bir çalışmada ise lif kaynaklı diyetle beslenen kemirgenlerde, dioksinin vücuttan atılım oranının daha yüksek olduğu bildirilmiştir (68). Yapılan bir çalışmada bileşiklere maruz kalan 2 deneğe sonraki ilk 3 yıl boyunca TCDD atılımını artırmak için diyetle yağ yerine sindirilemeyen, absorbe olmayan olestra kullanıldığı ve bağırsaklarda atılımı arttırdığı görülmüştür (69).

TCDD gibi bazı kimyasalların neden olduğu kanser oluşumlarının başında yetersiz antioksidan tüketimi büyük önem teşkil etmektedir. Yeterli düzeyde ve sürekli bitkisel antioksidanların (karotenoid, vitamin C, folik asit, retinol) tüketilmesi oksidatif stresin DNA hasarını engelleyerek, gelişmiş hasarlı hücrelerin büyümesini, tümoral yapıya geçmelerini ve yayılımını engellemektedir (70, 71).

3.3. Oksidatif Stres ve Serbest Radikaller

Serbest radikaller bir veya daha fazla eşleşmemiş elektrona sahip, kısa ömürlü, kararsız, molekül ağırlığı düşük ve çok etkin moleküllerdir (72, 73). Serbest radikaller normal hücrel metabolizma sırasında oluşabildiği gibi, çeşitli dış etkenler vasıtasıyla da oluşabilmektedir (74).

Serbest radikaller lipidler, proteinler, ve nükleik asitler gibi temel hücrel bileşenlerde hasar oluşturma özelliğine sahip olup kanser, ateroskleroz, amiloidaz, yaşa bağlı bağışıklık yetersizliği, demans ve hipertansiyon gibi çeşitli hastalıklara neden olduğu ve biyolojik yaşlanma sürecinde etkili rol oynadığı tanımlanmıştır (74).

Organizmada oluşan serbest radikaller endojen ekzojen kaynaklı olabilir. Memelilerde, mitokondriyal elektron transport zinciri (ETZ), fagositik ve endotelial hücrelerdeki oksidatif reaksiyonlar, redoks döngüleri, araşidonik asit metabolizması, otooksidasyon reaksiyonları sırasında ksantin oksidaz ile NADPH (nikotinamid adenin dinükleotid fosfat) oksidaz gibi enzimlerin etkisiyle serbest radikaller oluşmaktadır. Ekzojen kaynaklar ise endüstriyel kirleticiler, ilaçlar, diyet, iyonize radyasyon, ultraviyole (UV) ışını, sigara dumanı ve ksenobiyotiklerden meydana gelmektedir (75).

Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikallerin başında oksijen kaynaklı radikallerdir ve bunlara reaktif oksijen türleri (ROS) adı verilir. Yoğun olarak bulunan diğer bir serbest radikal ise reaktif nitrojen türleri (RNS) dir (76).

3.3.1. Memelilerdeki Başlıca Serbest Radikaller

Reaktif Oksijen Türleri (ROS): Serbest radikallerin dış orbital yörüngesinde paylaşılmamış elektron ve oksijen atomu ile oluşan bir durumdur. Oksijenin indirgenmesi ya da oksijene iyonize radyasyonun etki etmesi ile oluşur. En önemli reaktif oksijen türleri (ROS) ise şunlardır: (75, 77).

Süperoksit Radikali (O_2^-)

Hidrojen Peroksit (H_2O_2)

Hidroksil Radikali, Fenton ve Haber – Weiss Reaksiyonları (OH^\bullet)

Hipokloröz Asit (HOCl)

Singlet Oksijen (1O_2)

Alkil Radikali, Organik Radikaller (R^\bullet)

Hidroperoksil Radikali (HO^\bullet_2)

Alkoksil Radikali (LO^\bullet)

Reaktif Nitrojen Türleri (RNS): Canlılarda meydana gelen reaktif nitrojen türlerinin en önemlisi nitrik oksittir.

Nitrik Oksit (NO): Azot ve oksijen atomunun elektron alışverişinin birleşmesinden meydana gelir. NO, endojen Nitrik Oksit Sentaz (NOS) enzimi yardımıyla L-arijinin aminoasidinden sentezlenir. Yarı ömrü 10 ila 20 saniye olup hücre içi ve hücre dışında işlev gören küçük yapıdaki, reaktif moleküldür.

NO' nun vücutta oluşan reaktif oksijen türleriyle (ROS) reaksiyona girerek oksidan yapıda olan peroksinitrit (ONOOH) anyonu gibi serbest radikalleri oluşturduğu ve ileri bir parçalanma ile OH^{*} radikalini meydana getirdiği bilinmektedir. OH^{*} molekülü ise yıkım özelliğine sahip bir moleküldür. Kısacası NO, hücrelerin işlev bozukluğunda, damar sertliği, hipertansiyon ve kalp- damar hastalıklarında etkili olabilmekte (78).

Oksidatif Stres: Reaktif oksijen türlerinin aşırı üretimi veya yetersiz transferi söz konusu olduğunda hücrenin yükseltgenme-indirgenme reaksiyonlarında değişiklik meydana gelir. Çok sayıda hücrel ürünlerin kontrolsüz oksidasyonu meydana geldiğinde, bu olay oksidatif stres olarak tanımlanır. Oksidatif stres lipit tabakasının peroksidasyonuna, protein oksidasyonuna, DNA hasarına, sitotoksik etkilere ve sinyal iletilerinde bozulmalara neden olmaktadır. Vücudumuz oksidatif strese karşı ROS üretimini engellemeye ya da antioksidan savunma sistemi ile azaltmaya veya hasar gören proteinleri onarmaya çalışır (79-81).

Serbest oksijen radikallerinin birçoğu memelilerde üreme sisteminde önemli fonksiyonlarda görev almaktadır. Üreme ve sperm fonksiyonları üzerinde nitrik oksit (NO) ve peroksinitritin etkili rol oynadığı bilinmektedir (82, 83). Son zamanlarda NO özellikle insan ve sıçanlarda erkek üreme sisteminin düzenlenmesinde bir mesajcı olarak çeşitli hücre içi ve hücreler arası fonksiyonlarda, Leydig hücrelerinin steroidogenezis üzerinde otokrin ve parakrin kontrolü gibi olaylarda rol alır (84, 85). Spermatozoalar, hücre içi antioksidan enzimlerinin sitoplazmada yoksunluğundan kaynaklanan oksidatif saldırıya karşı özellikle savunmasızdır. Üstelik birçok hücre türünün aksine, sperm lipid membranları özellikle dokosaheksaenoik asit gibi çoklu doymamış yağ asitlerine (PUFA) yüksek oranda sahiptir (86).

Döllenmede membranların birleşmesinde, bu yüksek derecede doymamış yağ asitleri plazma zarına akışkanlık kazandırır. Ayrıca PUFA'lar malondialdehit ve çeşitli derecede reaktif a,b-doymamış hidroksialenalleri (örneğin; 4-hidroksiheksanal gibi) üretmek için kolayca oksitlenir (87, 88).

Bu reaktif aldehitler, bir kez üretildiğinde yakındaki diğer PUFA' lara saldırabilir, böylece bir zincir reaksiyonu ile yayılır ve membran akışkanlığını keser. Yüksek konsantrasyonlarda bu aldehitler, aynı zamanda amino asitleri ve nükleik asitleri, sperm fonksiyonunu bozan kararlı proteinleri ve DNA adüktlerini oluşturur (89, 90).

3.4. Apoptozis

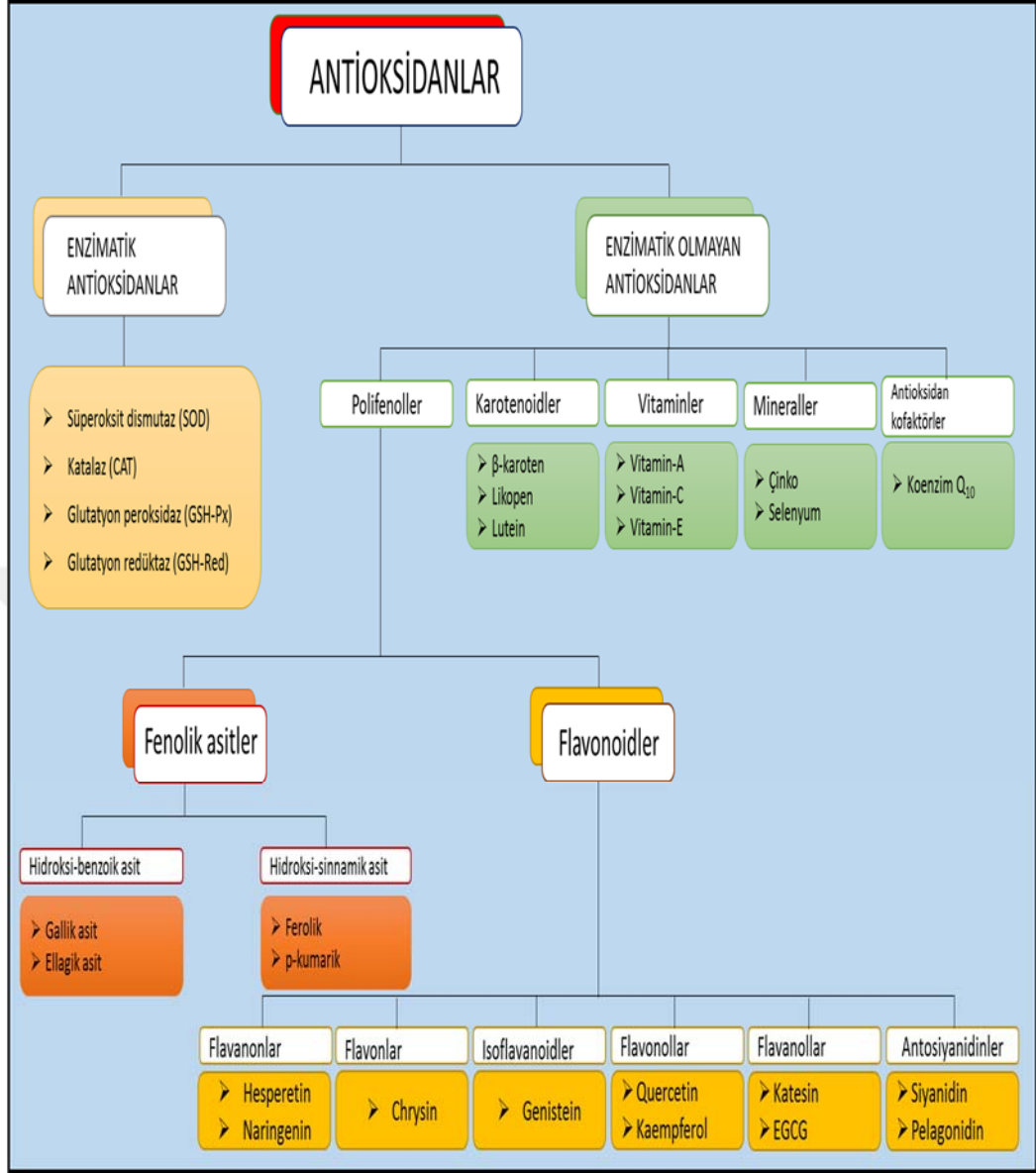
Kelime anlamı olarak Yunanca da apo=ayrı ve ptozis=düşen kelimelerinin birleştirilmesi ile 'yaprak dökümü' anlamına gelen bir terimdir (91). Gelişmiş organizmalarda hücreler arası ilişkilerin gereği olarak ihtiyaç duyulmayan ve işlevleri bozulan hücrelerin, çevre dokulara zarar vermeden programlı olarak ölmesidir (92, 93).

Apoptoz normal gelişim, yaşlanma ve hücrelerin devamını sağlamak için homeostatik denge mekanizması ve hastalık ya da zararlı ajanlar tarafından hücrelerin zarar görmesinde ve immün reaksiyonlar gibi savunma mekanizması esnasında oluşabilmektedir (94).

Normal spermatogenezis içerisinde, hücrelerin gelişimi ve farklılaşmasına ek olarak germinal hücre ölümü de görülür ve spermin oluşmasında bu olay büyük önem taşır. Apoptoz, spermatogenezis olayında spermatogonia ve spermatositler de programlı hücre ölümüne sebep olur. Sperm apoptozunda ki bu durum erkek infertilitesi için potansiyel sebep olarak kabul edilmektedir (95, 96).

3.5. Antioksidan Savunma Sistemleri

Adından da anlaşılacağı üzere antioksidanlar, reaktif oksijen türlerinin vücutta oluşturdukları tepkileri azaltarak nötralize eden bileşiklerdir (97). Antioksidanlar endojen ve eksojen kaynaklı olmak üzere iki gruba ayrılırlar. Vücuttaki antioksidanlar (endojen), antioksidan enzimatik savunmalarından glutatyon peroksidaz (GSH-Px), katalaz gibi ve enzimatik olmayan E vitamini, melatonin gibi vücutta sentezlenen antioksidan bileşiklerinden oluşur (Şekil 6). Vücut dışında antioksidanlar (eksojen), kompleks karışımlarda (çikolata veya zeytin yağı gibi) bulunan sentetik veya doğal bileşiklerin diyetle ya da ayrı olarak alınmasıdır (98).



Şekil 6: Antioksidanların Sınıflandırılması (99)

3.6. Flavonoidler

Flavonoidler, çoğu bitki türünde genellikle meyve ve sebzelerden elde edilen ve bazı gıdalarda bulunan doğal antioksidan yapısında polifenolik bir bileşiktir.

Antioksidan aktivitelerinin yanı sıra metallerle kelat oluşturma ve serbest radikallerin uzaklaştırılması, antialerjik, antinflamatuar, antibakteriyel, antiviral, antitümör gibi geniş bir yelpazede önemli yeteneklere sahip bir yapıdadır (100, 101).

Flavonoid bileşikleri, benzo- γ -piron türevlerinden meydana gelen geniş heterojen grupları içeren polifenol özelliğindeki bileşiklerdir (102). Flavonoidin yapısı heterosiklik (C) özellikte 3 karbonlu bir zincirle bağlanmış iki fenolik (A,B) halkadan oluşur ve flavonoidlerin kendilerine özgü özelliklerini bu heterosiklik halka yapısı belirler (103). Doğada 5000 den fazla oldukları varsayılan flavonoidlerin moleküler yapılarına göre; flavon, flavanon, flavonol, izoflavon, antosiyanidin, flavanol (Kateşin) olarak sınıflandırılmaktadır (102, 104).

3.6.1. Chrysin

Ağırlıklı olarak çarkıfelek veya mavi tutku çiçeği adıyla bilinen *Passiflora caerulea* 'da, bal ve propoliste bulunan Chrysin (CH) polifenolik bir bileşiktir. Ayrıca aldığımız gıdalarda, elma, soğan, çay, kırmızı şarap, kızılılık, çilek, brokoli, maydanoz, kekik, dolma biber ve kereviz gibi birçok bitki özünde de CH bulunmaktadır (105, 106).

CH, C-2 ve C-3 arasında çift bağ bulunan polifenolik molekül yapısındadır.

Uluslararası Temel ve Uygulamalı Kimya Birliği (IUPAC - International Union of Pure and Applied Chemistry) tarafından 5,7dihydroxy-2-phenyl-4-chromenone olarak adlandırılıp $C_{15}H_{10}O_4$ formülü ile gösterilmektedir (107, 108) (Şekil 7).



Şekil 7: Chrysin'nin molekül yapısı. (107)

Doğal bir flavon olan CH' in antioksidan, antihepatotoksik, antiapoptotik, antiviral, antiinflamatuvar ve antidiyareik özellikleri ile damar koruyucu ve spasmolitik gibi çeşitli biyolojik ve farmakolojik etkilere sahip olduğu bilinmektedir (105, 109). Önceki çalışmalar, flavonoidlerin antioksidan özelliğini hidroksil gruplarının miktarı ve dağılımına, özellikle B halkasının hidroksilasyonuna bağlı olduğunu kanıtlamıştır (109). Son yıllarda yapılan araştırmalar, CH' nin enfeksiyon, kanser ve yaşlanma ile ilgili anahtar molekülleri düzenlediğini ortaya koymuştur (110). Kanser hücrelerinde çoğalmayı engellediği ve apoptozu indüklediği için CH, kanser önleyici bir madde olarak aday gösterilmektedir (111). Bulgular CH' in lösemi, prostat, servikal, özofageal, tiroid

ve göğüs kanserlerinden dolayı ortaya çıkan pro-apoptotik ve antiproliferatif özelliklerinden, hâlen umut verici bir antikanser ajanı olduğu görülmektedir (112).

Dişi ve erkek cinsiyet hormonlarının sentezlenmesinde aromataz enzimi görev almaktadır. Östrojen sentetaz olarak bilinen Aromataz enzimi (p450 sitokrom), testosteronu östradiole dönüştüren anahtar bir enzimdir (113).

CH'in özelliklerinden biri de aromataz enzimi inhibitörü olması ve kullanılması durumunda testosteron düzeyi ile sperm kalitesini arttırdığı rapor edilmiştir (114, 115).

TCDD son derece dayanıklı ve uzun bir yarı ömre sahip olmasından dolayı çevrede uzun süre mevcudiyetini sürdürür ve insanlar genellikle kontamine besinlerle bu toksik maddeyle karşılaşır. TCDD'nin insan vücudunda da birikme eğilimi vardır ve bu yönüyle hayati risk oluşturması söz konusudur.

3.7. Araştırmanın Amacı

Biz bu çalışmada, çevrede uzun süre kalıcılığı olan ve organizmada birikme eğilimi gösteren TCDD'nin günümüzün en önemli sağlık problemlerinden olan infertiliteye bir katkısı olup olmadığını ve testis dokusunda oluşturması muhtemel doku hasarına karşı antioksidan ve antiinflamatuvar özellikleri olan CH'nin etkilerini belirlemeyi amaçladık.

4. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma, Fırat Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu'nun 15/10/2014 tarih ve 2014/21 sayılı 198 no'lu kararı gereğince etik yönden onay alınarak, Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırma Merkezi (FÜDAM) ve Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı laboratuvarında yapıldı.

Çalışma bütçesinin tamamı Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi (FÜBAP)' nin TF. 14.71 proje no' lu kararı gereğince karşılandı.

4.1. Deneysel Hayvanlarının Beslenmeleri ve Barındırılmaları

Bu çalışmada FÜDAM'dan temin edilen ortalama ağırlığı 105-130 gr olan 28 adet 4 haftalık Wistar Albino cinsi erkek sıçan kullanıldı. Deneysel hayvanları FÜDAM hayvan laboratuvarında 12 saat (07:00-19:00) aydınlık - 12 saat (19:00-07:00) karanlık periyodunda, 21 ± 1 °C ortam sıcaklığında takip edildi. Özel olarak tasarlanmış kafeslerde barındırılan ratlar, Elazığ Yem Sanayi A.Ş. Yem Fabrikası'nda özel olarak hazırlanmış pelet yem şeklindeki rat yemleriyle

beslenerek ad libitum su ve yiyecek alımları sağlandı. Pelet yemlerin içeriği tablo 4’de gösterildi.

Yemler için çelik kaplar, su için ise paslanmaz çelik bilyeli cam biberonlar kullanıldı. Sıçanların deney süresince bakımlarına bu şekilde devam edildi.

Tablo 4: Sıçanlara verilen pelet yemin bileşimi

Madde adı (%)	Miktarı
Buğday	15
Mısır	10
Arpa	27
Kepek	8
Soya	29,4
Balık unu	8
Tuz	0,6
Kavimix VM23-Z	0,2
Methionin*	0,2
DCP**	1,6

* 1 gramında: 4800 IU A, 960 IU D₃, 12 mg E, 0,8 mg K₃, 0,8 mg B₁, 2,4 mg B₂, 1,2 mg B₆, 0,006 mg B₁₂ vitaminleri, 16 mg Nicotin amid, 3,2 mg Cal. D. Panth., 0,32 mg Mn, 16 mg Fe, 24 mg Zn, 2 mg Cu, 0,8 mg I, 0,2 mg Co, 0,06 mg Se, 4 mg Antioksidan ve 200 mg Ca bulunur.

** % 18 fosfor, % 25 kalsiyum, % 0,2 flor’dan oluşur.

4.2. Deney Gruplarının Oluşturulması ve Deneysel Uygulamalar

28 adet 4 haftalık Wistar Albino cinsi erkek sıçanlar deney başlangıcında ilk ağırlık ölçümleri yapıldıktan sonra her grupta 7 adet sıçan olacak şekilde rastgele 4 gruba ayrıldı.

Kontrol Grubu (Grup I): Bu gruptaki sıçanlara 5 hafta deney süresince herhangi bir işlem uygulanmadı.

TCDD Uygulanan Grup (Grup II): Bu gruptaki sıçanlara, 5 hafta boyunca 25 µg/kg/hafta TCDD (Sigma Aldrich, Cas no: 1746-01-6, Germany) intraperitoneal (ip) uygulandı.

TCDD + CH Grubu (Grup III): Bu gruptaki sıçanlara intraperitoneal 25 µg/kg/hafta TCDD ilaveten zeytinyağında çözdürülerek 50 mg/kg/gün CH (Alfa Aesar, Lot:10167213, Germany) oral gavaj yoluyla verildi.

CH Grubu (Grup IV): Bu gruptaki sıçanlara 5 hafta boyunca 50 mg/kg/gün CH oral gavaj yoluyla verildi.

Deney süresince tüm sıçanlar, her hafta düzenli olarak tartılarak kilo değişimleri takip edildi.

4.3. Doku Örneklerinin Alınması

5 haftalık deney süresi sonunda tüm gruplardaki sıçanlar intraperitoneal olarak uygulanan ketamin (75 mg/kg) + xylazine (10 mg/kg) anestezisi altında dekapite edildi. Sıçanların testis dokuları hızlıca çıkarılıp çevre yağ dokularından arındırıldıktan sonra tartılıp histolojik analizler için Bouin's solüsyonuna alındı. Biyokimyasal analizler için sıçanlardan kan dokusu alındı. Kandan elde edilen serum daha sonra çalışılmak üzere -20 °C'de saklandı.

4.4. Organ Ağırlıklarının Ölçülmesi

Testislere ait rölatif ağırlık hesaplaması aşağıdaki formüle göre yapıldı.

$$\text{Rölatif Testis Ağırlığı} = \frac{\text{Absolut testis ağırlığı (gr)} \times 100}{\text{Vücut ağırlığı (gr)}}$$

4.5. Histolojik Değerlendirmeler

Testis dokuları Bouin's solüsyonunda yaklaşık 8 saat boyunca tespit edildikten sonra sırasıyla % 50'lik, % 60'lık ve % 70'lik etil alkol solüsyonlarında yıkandı. Takiben ksilolde parlatılıp parafin (P3558-1kg Sigma-Aldrich Paraplast Embedding Media, U.S.A) bloklara gömüldü (Tablo 5). Parafin bloklardan 5-6 µm kalınlığında kesitler rodajlı ve polilizinli lamlara alındı. Doku kesitleri Periyodik Asit Schiff (PAS) ve Masson'un üçlü boyama teknikleri kullanılarak

boyandı. Dokular Olympus BH2 fotomikroskopta incelenip, fotoğraflandı.

Tablo 5: Histolojik İnceleme İçin Doku Hazırlama Basamakları

SIRA	İŞLEM	SÜRE
1	% 70 Alkol	2 saat
2	% 80 Alkol	1.5 saat
3	% 96 Alkol	30 dakika
4	% 96 Alkol	30 dakika
5	% 100 Alkol	30 dakika
6	% 100 Alkol	30 dakika
7	Alkol + Ksilol	15 dakika
8	Ksilol I	10 dakika
9	Ksilol II	20 dakika
10	Yumuşak parafin + Ksilol	45 dakika
11	Yumuşak parafin	1 saat
12	Yumuşak parafin – Sert parafin	1.5 saat
13	Sert Parafin	3 saat
14	Gömme	

4.6. TUNEL Metodu

Terminal deoxynucleotidyl transferase (TdT)-mediated deoxyuridine triphosphate (dUTP)-biotin nick end-labeling (TUNEL) boyaması apoptotik DNA fragmentasyonlarını göstermek için kullanılan bir tekniktir. Bu amaçla parafin bloklardan 5 µm kalınlığında kesitler polilizinli lamlara alındı. Üretici firmanın (Lot No: 2470976, ApopTag Plus Peroxidase In Situ Apoptosis Detection Kit, Millipore) Tablo 6'da gösterilen boyama protokolüne göre kesitler boyandı, apoptozise giden hücreler belirlendi. Pozitif kontrol için meme dokusu kullanıldı. Negatif kontrol için ise doku üzerine Tdt enzimi yerine Reaction Buffer kullanıldı, diğer basamaklarda herhangi bir değişiklik yapılmadı.

Hazırlanan preparatlar Olympus BH2 fotomikroskopta incelenip fotoğraflandı. Değerlendirmede Harris Hematoksilen ile maviye boyanmış çekirdekler normal, kahverengi çekirdek boyaması gösteren hücreler ise apoptotik hücreler olarak kabul edildi.

Kesitlerde 20' lik büyütmede rastgele 6 alan incelenerek, normal ve apoptotik en az 340 hücre sayıldı. Apoptotik hücrelerin, toplam (normal + apoptotik) hücrelere oranlanması ile apoptotik indeks (AI) hesaplanarak istatistiksel analizleri yapıldı.

Tablo 6: TUNEL boyaması işlem basamakları

SIRA	İŞLEM	SÜRE
1	60°C etüv	Bir gece
2	Ksilol	3x15 dakika
3	% 100, % 96, % 80, % 70 etil alkol	3'er dakika
4	PBS (phosphate buffered saline)	5 dakika
5	Kesitlerin çevreleri sınırlayıcı kalem ile çizilir.	
6	1:500 dilüsyondaki Protinaz K solüsyonu	7 dakika
7	PBS	3x5 dakika
8	Endojen peroksit blokajı (%3 H ₂ O ₂)	5 dakika
9	PBS	3x5 dakika
10	Equilibration tampon solüsyonu	6 dakika
11	Çalışma solüsyonu (% 70 µl Reaction Buffer + % 30 TdT Enzyme)	60 dakika
12	Stop/Wash Buffer (2 ml) + Distile su (68 ml) oda sıcaklığında	10 dakika
13	Anti-Digoxigenin-Peroxidase	30 dakika
14	PBS	3x5 dakika
15	DAB Dilution Buffer (600 µl) + DAB Substrate (12 µl)	5-10 dakika
16	PBS	3x5 dakika
17	Distile su	5 dakika
18	Harris hematoksilen	1-5 dakika
19	Distile su	5 dakika
20	Uygun kapatma solüsyunu ile kapatma.	

4.7. Biyokimyasal Analizler

Sakrifikasyondan sonra sıçanlardan alınan kan örnekleri hızla düz biyokimya tüplerine aktarıldı. 4000 rpm'de 10 dakika santrifüj sonrası serum örnekleri elde edildi. Elde edilen bu serum örnekleri analiz edileceği zamana kadar -20 derecede muhafaza edildi. Serum örneklerinde Testosterone düzeyleri, Rat Testosterone Elisa kit (SUNRED BIOSCIENCE, Katalog no: 201-11-5126 Shanghai, CHINA) ELISA yöntemiyle kit kataloglarında belirtilen çalışma prosedürlerine uygun olarak çalışıldı. Rat testosterone elisa kitinin ölçüm aralığı: 10 pg/mL-3000 pg/mL, sensitivitesi 8,775 pg/mL idi. Plate yıkamalarında otomatik yıkayıcı Bio-Tek ELX50 (BioTek Instruments, USA), absorbans okumalarında ChroMate, Microplate Reader P4300 cihazları (Awareness Technology Instruments, USA) kullanıldı. Test sonuçları pg/mL olarak belirtildi.

4.8. İstatistiksel Analiz

Tüm istatistiksel analizler SPSS 22.0 (Statistical Package for Social Sciences) paket programında yapıldı. Veriler ortalama \pm standart hata değerleri olarak sunuldu. $P < 0.05$ değeri anlamlı olarak kabul edildi.

Gruplar arası TUNEL pozitifliği arasındaki farklılıklar Ki-kare testi ile istatistiksel olarak analiz edildi.

5. BULGULAR

5.1.Vücut Ağırlık Değişim Yüzdesi

Beş haftalık deney süresi boyunca düzenli yapılan tartımlar sonunda tüm gruplardaki sıçanların ortalama vücut ağırlık değişim yüzdeleri aşağıdaki formül aracılığıyla hesaplanarak grafik oluşturuldu (Şekil 8).

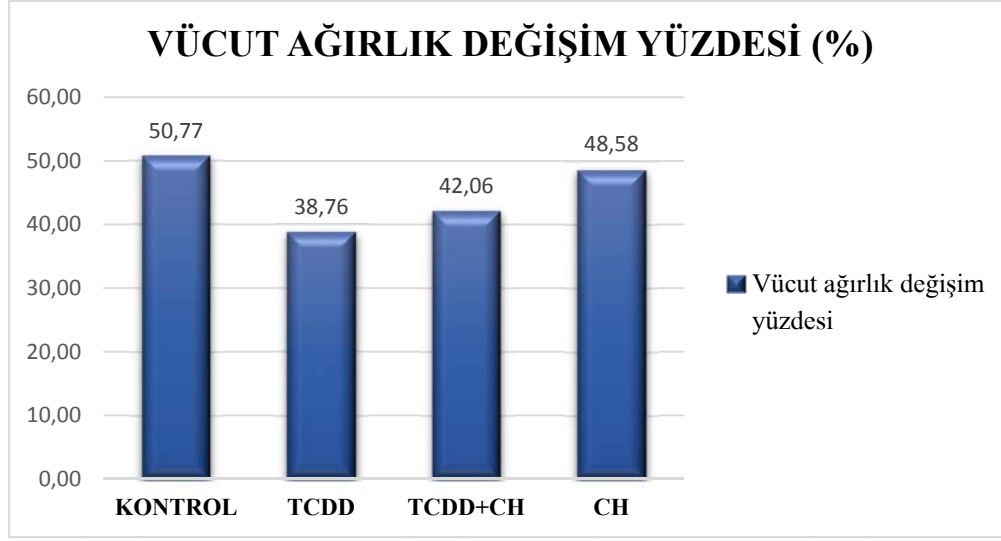
$$\text{Vücut ağırlık değişim yüzdesi (\%)} = \frac{\text{Son Ağırlık} - \text{İlk Ağırlık}}{\text{Son Ağırlık}} \times 100$$

TCDD uygulanan gruplardaki sıçanların ortalama vücut ağırlık değişim yüzdesinde, kontrol grubu ile kıyaslandığında anlamlı bir düşüş gözlemlendi ($p < 0.05$). CH grubu ile kontrol grubu arasındaki fark ise istatistiksel açıdan önemsiz bulundu ($p > 0.05$) (Tablo 7).

Tablo 7: Vücut ağırlık değişim yüzdesi

GRUPLAR	VÜCUT AĞIRLIK DEĞİŞİM YÜZDESİ
KONTROL	50.77±0.67 ^b
TCDD	38.76±1.51 ^a
TCDD+ CH	42.06±0.96 ^a
CH	48.58±0.55 ^b

Değerler; ortalama ± standart hata olarak verilmiştir. ^a:Kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında, ^b:TCDD grubuna göre karşılaştırıldığında, ($p < 0.001$).



Şekil 8: Vücut ağırlık değişim yüzdesi. Değerler ortalama olarak verilmiştir.

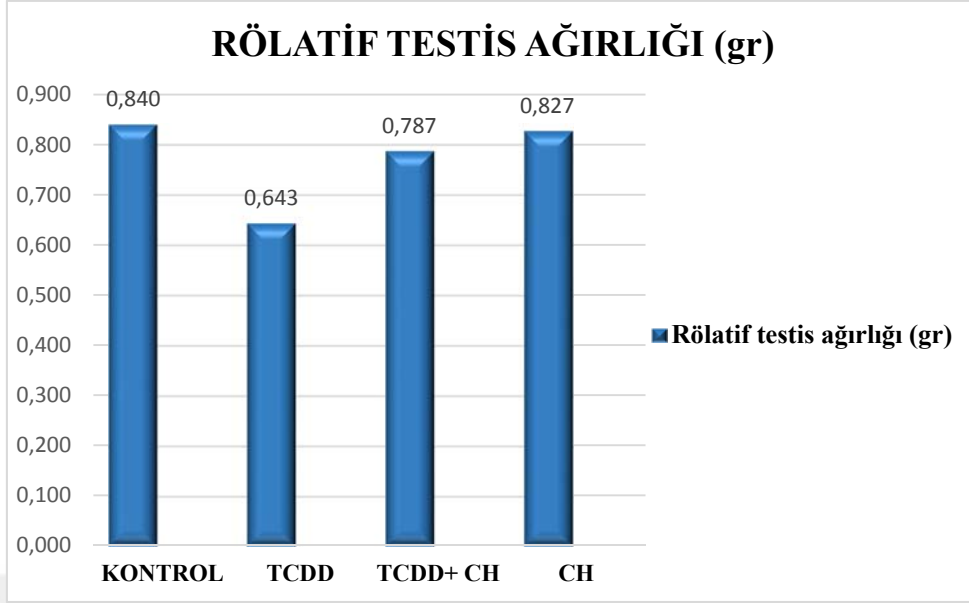
5.2. Rölatif testis ağırlığı

TCDD uygulamasının sıçanlardaki rölatif testis ağırlıklarını azalttığı tespit edildi ($p < 0.05$). CH grubu ile kontrol grubu arasında rölatif testis ağırlığı açısından önemli bir fark bulunmadı ($p > 0.05$) (Şekil 9) (Tablo 8).

Tablo 8: Rölatif testis ağırlığı (gr)

GRUPLAR	RÖLATİF TESTİS AĞIRLIĞI (GR)
KONTROL	0.840±0.003 ^b
TCDD	0.643±0.008 ^a
TCDD+ CH	0.787±0.015 ^{ab}
CH	0.827±0.005 ^b

Değerler; ortalama ± standart hata olarak verilmiştir. ^a:Kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında, ^b:TCDD grubuna göre karşılaştırıldığında, ($p < 0.001$).



Şekil 9: Rölatif testis ağırlığı (gr). Değerler ortalama olarak verilmiştir.

5.3. Histolojik Değerlendirmeler

Kontrol grubuna ait testis dokularında seminifer tübül germinal epitelini oluşturan spermatogenik seriye ait hücreler ve Sertoli hücreleri, interstisyel alan ve bu alanda yer alan Leydig hücreleri normal yapıda izlendi (Şekil 10, 11).

Beş hafta süresince haftada bir kez 25 µg/kg/hafta (i.p) TCDD uygulanan deneklere ait dokularda, germinal epitelde atrofi, germinal epitel yüksekliğinde azalma, vakuolar dejenerasyon, germ hücreleri arasında ayrılma, multinükleer spermatid dev hücreleri ve bazı tübüllerdeki germ hücrelerinde mayoz bölünmenin belli aşamalarında duraksama ayırt edildi (Şekil 12-15).

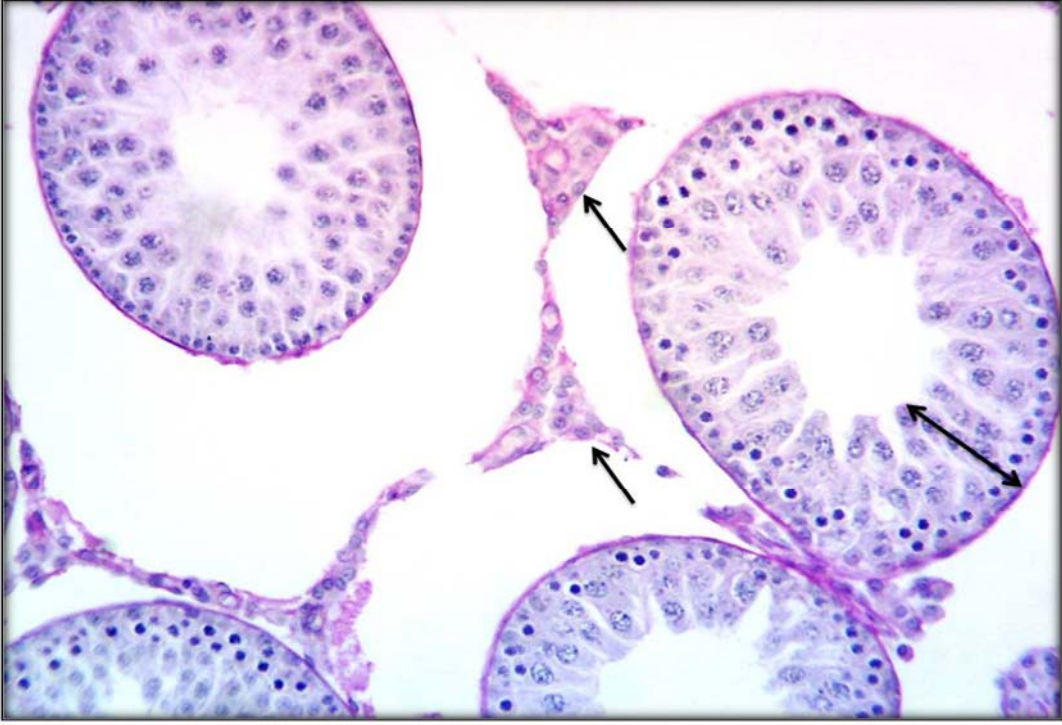
TCDD toksisitesine karşı koruyucu amaçla CH uygulanan gruba ait testiküler dokuda nispeten koruyucu etki sağlandı. Bu grupta normal görümlü

tübüllerin arasında germinal epitelinde dejenerasyon, lümene dökülmüş immatür germ hücreleri ve birkaç alanda spermatid dev hücresi içeren normal yapıda olmayan tübüllere de rastlandı (Şekil 16, 17).

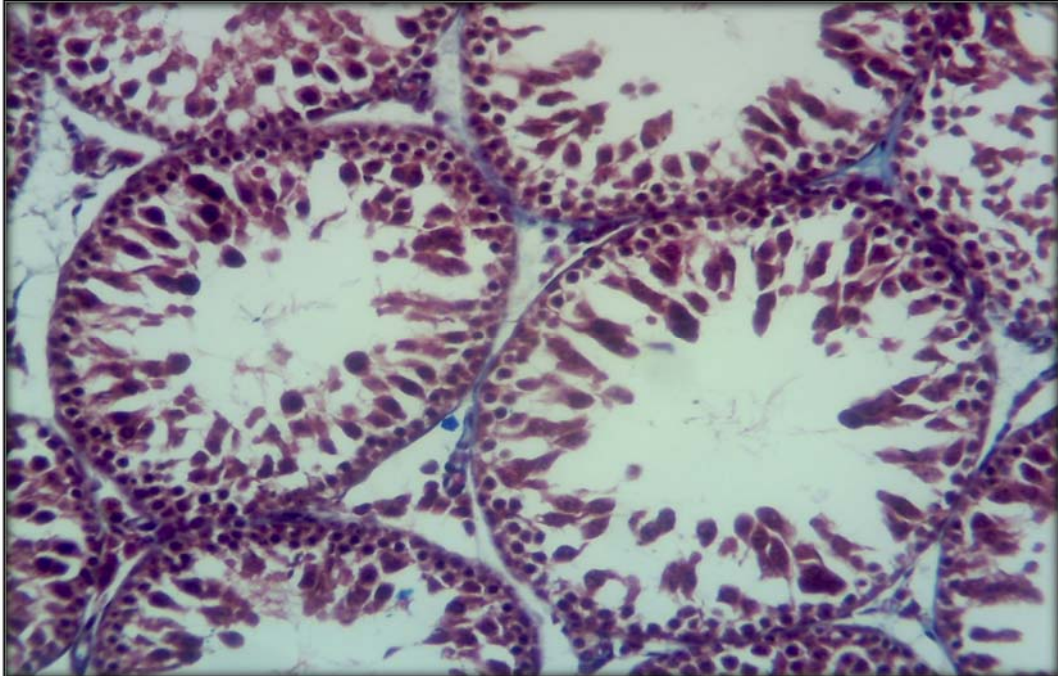
Sadece CH uygulanan gruba ait kesitlerde ise testis dokusu kontrol grubu gibi normal görünümlü olarak ayırt edildi (Şekil 18, 19).



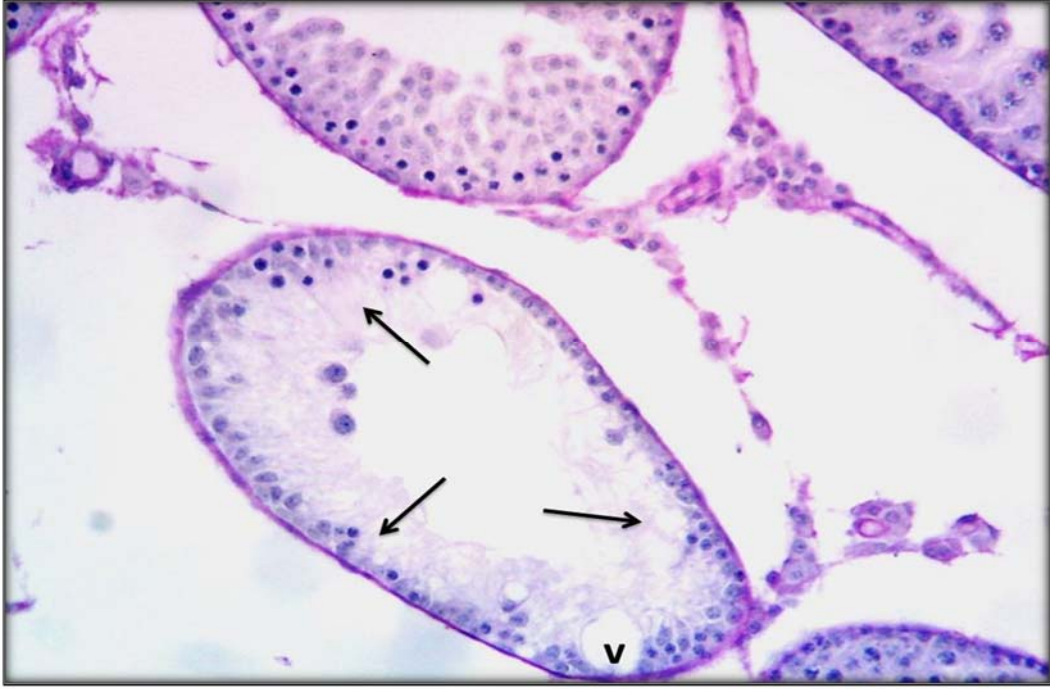
Şekil 10: Kontrol grubu. Seminifer tübül germinal epitelinde (↔) yer alan spermatogenik seri hücreleri ve Sertoli hücreleri ve interstisyel alanda yer alan Leydig hücreleri (→) normal yapıda gözlenmekte. Masson's Üçlü Boyası x 200



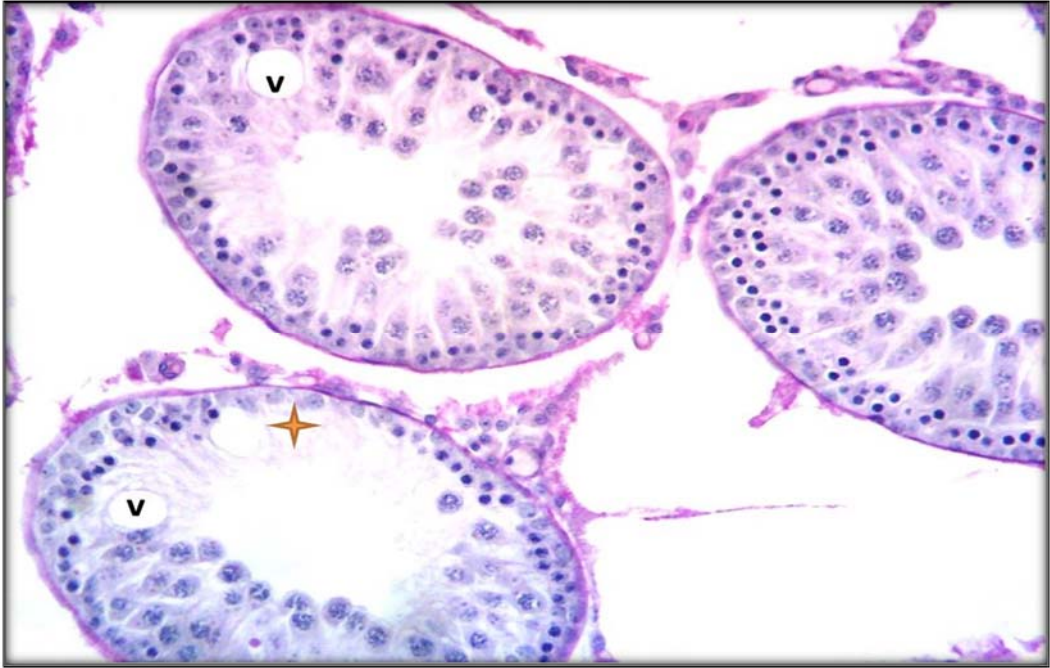
Şekil 11: Kontrol grubu. Normal görünümlü seminifer tübül germinal epiteli (\leftrightarrow) ve interstisyel Leydig hücreleri (\rightarrow). Periodic Acid Schiff x 200



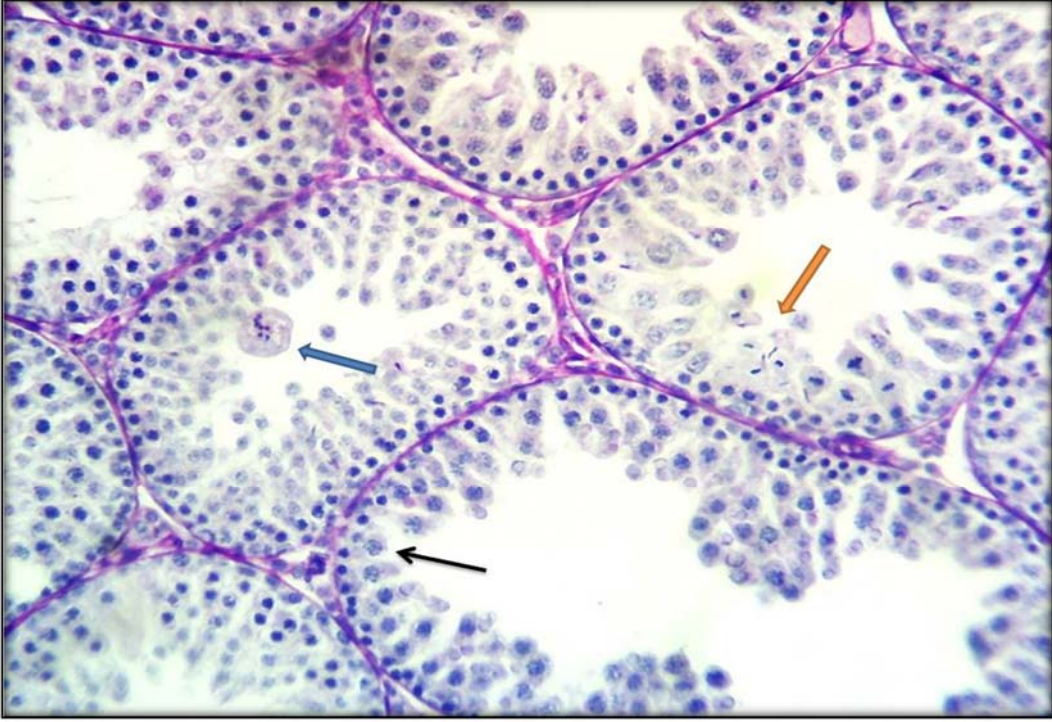
Şekil 12: TCDD grubu. Seminifer tübül epitelini oluşturan hücreler arasında ayrılmalar. Masson's Üçlü Boyası x 200



Şekil 13: TCDD grubu. Seminifer tübül epitelinin yüksekliğinde azalma, vakuolar dejenerasyon (V) ve atrofi (→). Periodic Acid Schiff x 200



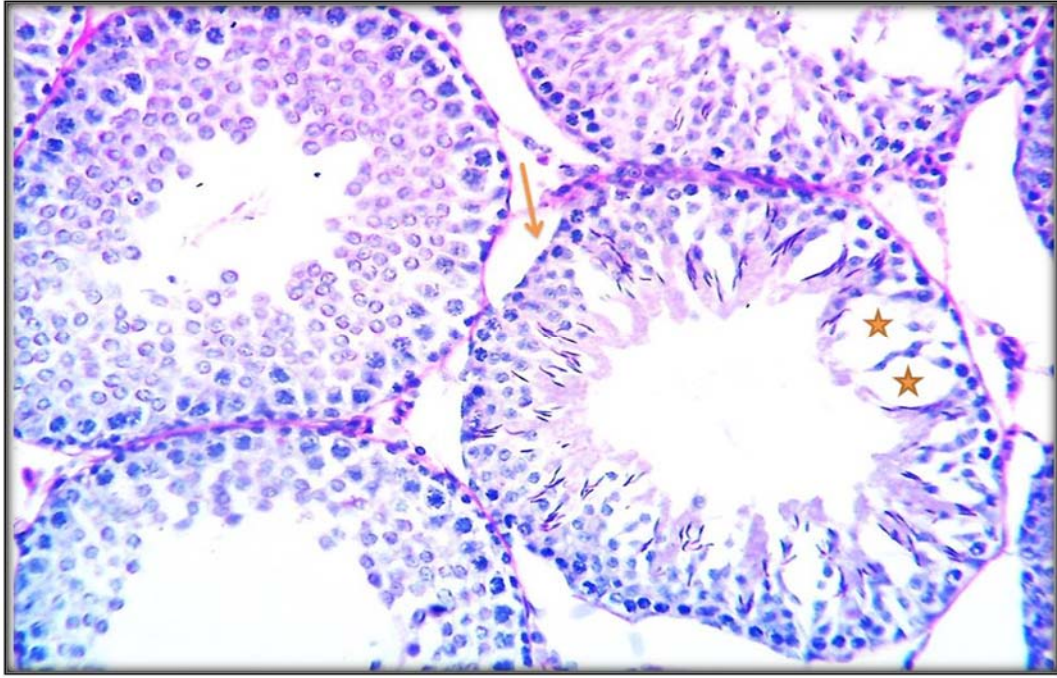
Şekil 14: TCDD grubu. Seminifer tübül epitelinde vakuolar dejenerasyon (V) ve atrofi (✦). Periodic Acid Schiff x 200



Şekil 15: TCDD grubu. Seminifer tübül epitel yüksekliğinde azalma (→), multinükleer dev hücre (⇨), mayoz bölünmenin belli aşamalarında duraksamış hücreler (⇨) ayırt edilmekte. Periodic Acid Schiff x 200



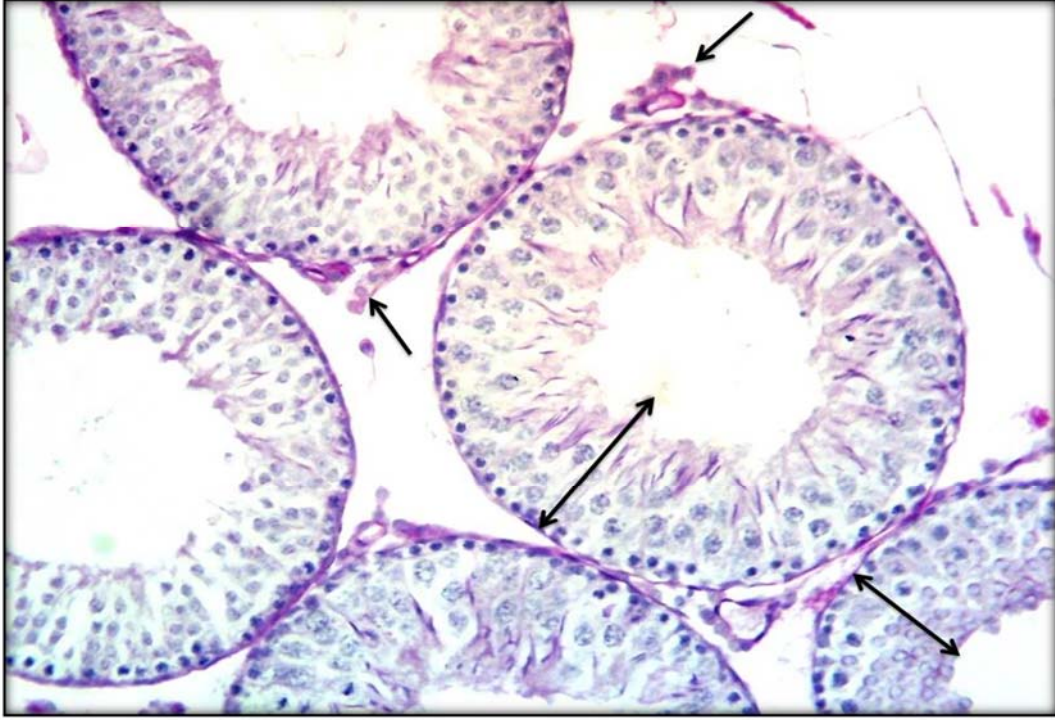
Şekil 16: TCDD+CH grubu. Multinükleer spermatid dev hücre (→) ve heterokromatik çekirdekli eozinofilik sitoplazmalı germ hücreleri (→) dikkati çekmekte. Masson's Üçlü Boyası x 200



Şekil 17: TCDD+CH grubu. Normal görünümlü seminifer tübüllerin arasında bazal membranında ayrılma(→) ve germinal epitelinde dejenerasyon (★) olan seminifer tübül. Periodic Acid Schiff x 200



Şekil 18: CH grubu. Normal görünümlü seminifer tübül germinal epiteli (↔) ve interstisyel Leydig hücreleri (→). Masson's Üçlü Boyası x 200



Şekil 19: CH grubu. Normal görünümlü seminifer tübül germinal epiteli (↔) ve interstisyel Leydig hücreleri (→). Periodic Acid Schiff x 200

5.4. TUNEL Bulguları

Apoptotik hücre ölümünün belirlenmesi için TUNEL tekniği kullanılarak yapılan boyamanın ışık mikroskopta incelenmesinde (Şekil 20, 25) kontrol grubu kesitlerde TUNEL (+), TCDD grubunda TUNEL (+++) , TCDD + CH grubunda TUNEL (+), sadece CH uygulanan grupta ise TUNEL (+) yaygınlığında işaretlenme gözlemlendi (Tablo 9). TUNEL pozitifliği; kontrol grubu ve CH gruplarında benzerdi. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında TCDD grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir artış vardı ($p < 0.05$) (Şekil 21-23). CH tedavisi yapılan TCDD+CH grubunda apoptotik hücre ölümünün azaldığı ve bu gruptaki

TUNEL pozitifliğinin istatistiksel olarak kontrol ve sadece CH uygulanan deneklerden hazırlanan kesitlerden anlamlı farklılık göstermediği ($p>0.05$) saptandı (Tablo 10). Bu boyamada pozitif kontrol için meme dokusu kullanıldı, negatif kontrolde ise pozitiflik ayırt edilmedi.

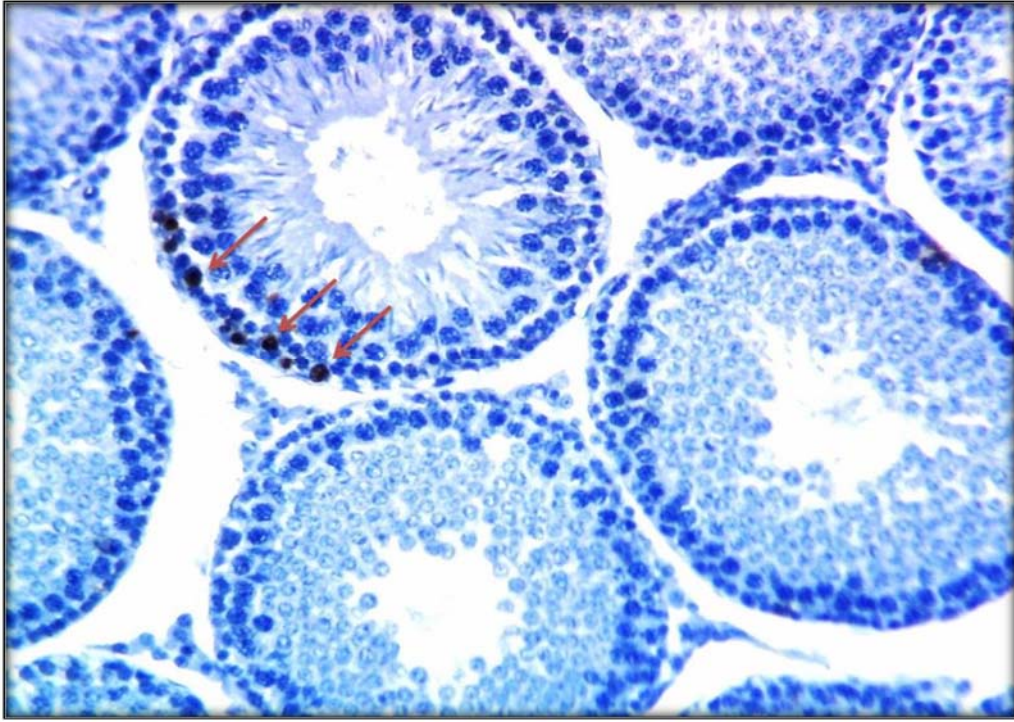
Tablo 9: TUNEL Boyama, Semikantitatif Analiz

Gruplar	TUNEL Boyamanın Yaygınlığı
Kontrol	+
TCDD	+++
TCDD+ CH	+
CH	+

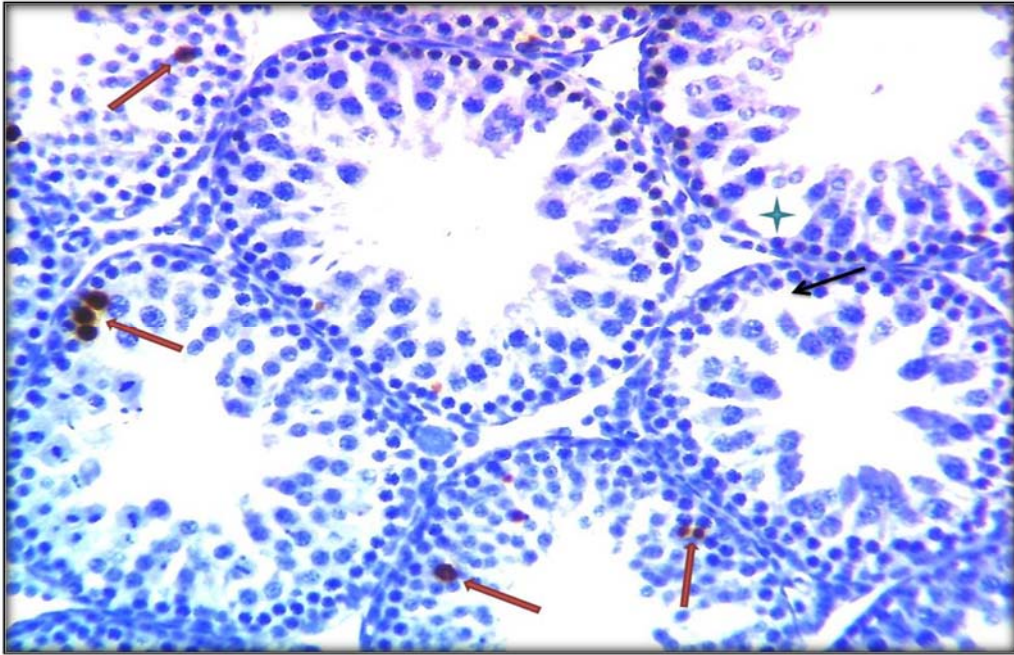
Tablo 10: Apoptotik indeks (%)

Gruplar	Apoptotik İndeks (%)
Kontrol	0,0061 \pm 0,0008 ^b
TCDD	0,0285 \pm 0,0023 ^a
TCDD + CH	0,0115 \pm 0,0008 ^b
CH	0,0065 \pm 0,0007 ^b

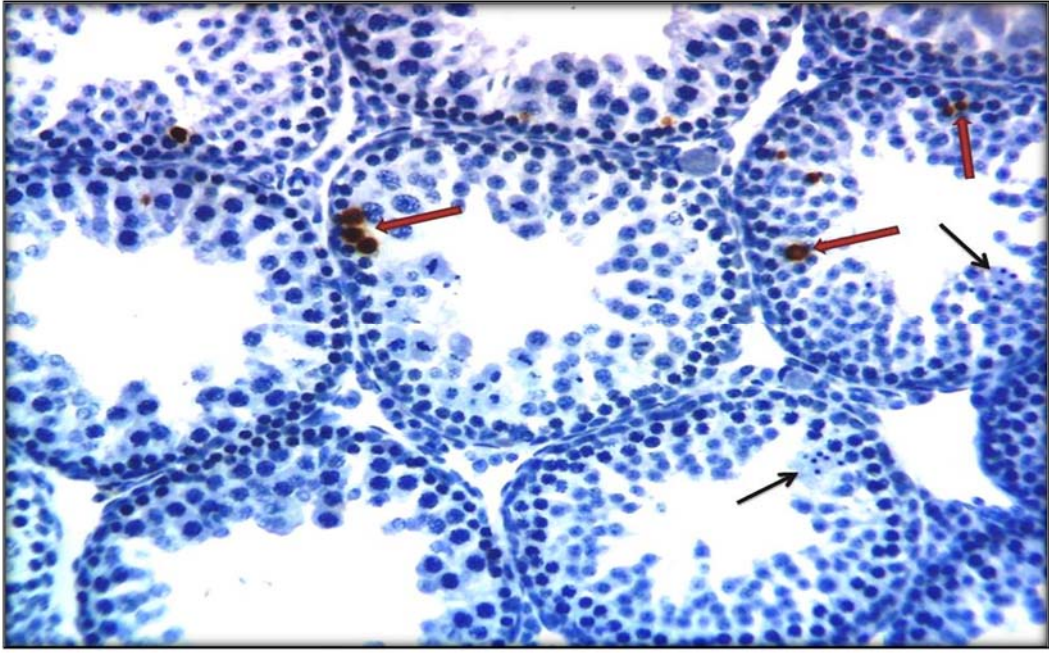
Değerler ortalama \pm standart hata olarak verilmiştir. a:Kontrol grubuna göre anlamlı, b:TCDD grubuna göre anlamlı, ($p<0.001$).



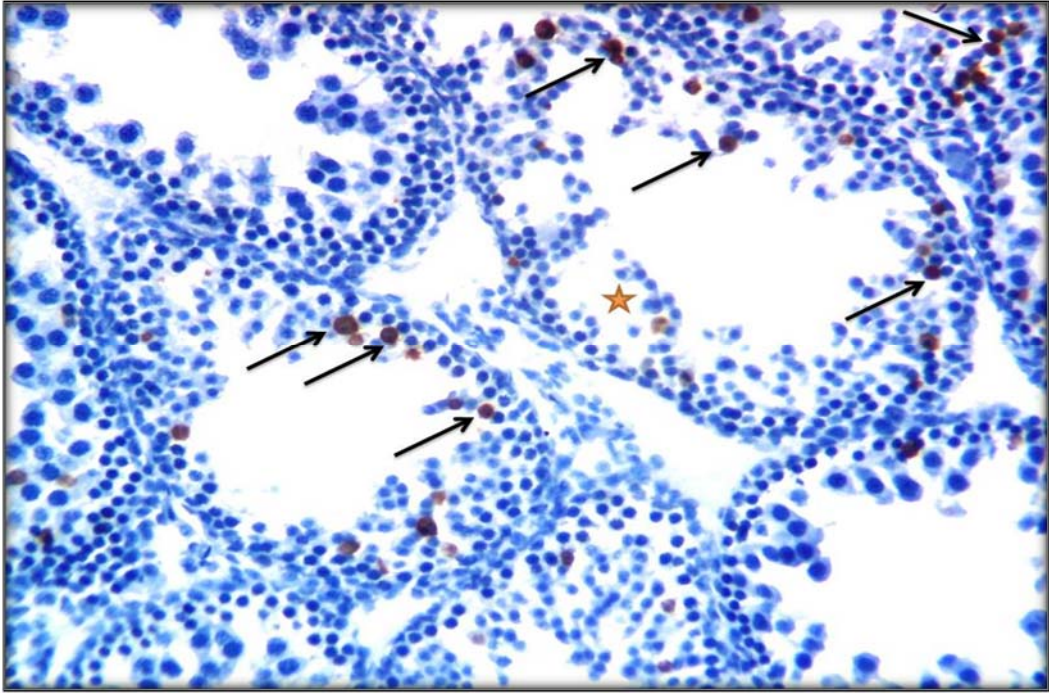
Şekil 20: Kontrol grubu. Az sayıda TUNEL-pozitif apoptotik germ hücresi (→). TUNEL x200



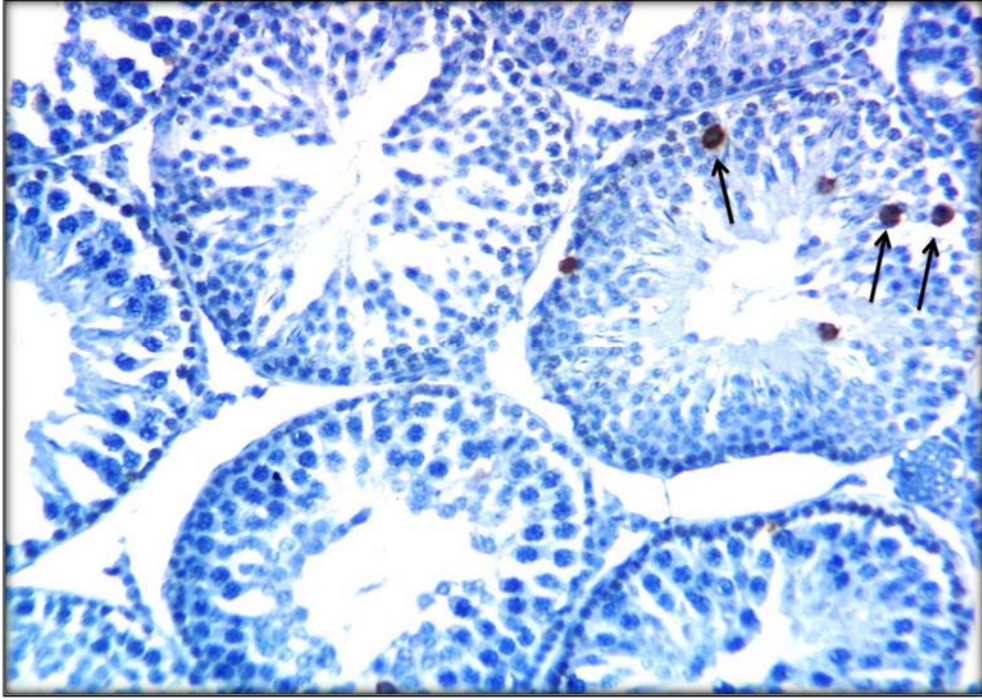
Şekil 21: TCDD grubu. TUNEL-pozitif apoptotik germ hücreleri (→) ve seminifer tübül epitelinde dejenerasyon (*) ve germ hücreleri arasında ayrılma (→). TUNEL x200



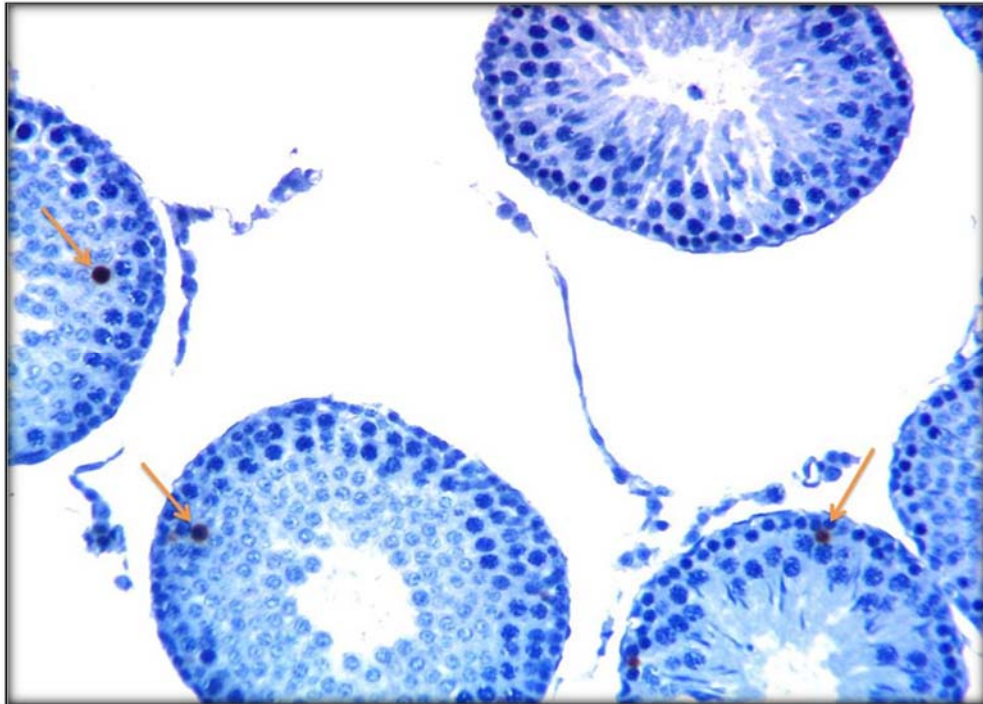
Şekil 22: TCDD grubu. TUNEL-pozitif apoptotik germ hücreleri (↔) ve multinükleer spermatid dev hücreleri (→). TUNEL x200



Şekil 23: TCDD grubu. TUNEL-pozitif apoptotik germ hücrelerinin yaygınlığı (→) ve dejenere germinal epitel (★) dikkati çekmekte. TUNEL x200



Şekil 24: TCDD+ CH grubu. TUNEL-pozitif apoptotik germ hücreleri (→). TUNEL x200



Şekil 25: CH grubu: Az sayıda TUNEL-pozitif apoptotik germ hücresi (→). TUNEL x200

5.5.Biyokimyasal Analizler

TCDD uygulanan gruplardaki sıçanların serum testosteron seviyelerinde, kontrol grubu ile kıyaslandığında önemli bir azalma gözlemlendi ($p < 0.05$). CH grubu ile kontrol grubu arasındaki fark ise istatistiksel açıdan önemsiz bulundu ($p > 0.05$) (Tablo 11).

Tablo 11: Serum Testosteron Seviyeleri

GRUPLAR	Testosteron Seviyeleri (pg/ml)
Kontrol	770,58 ± 16,05 ^b
TCDD	523,84 ± 26,07 ^a
TCDD + CH	624,13 ± 6,81 ^a
CH	734,82 ± 25,95 ^b

Değerler ortalama ± standart hata olarak verilmiştir. a: Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında,

b: TCDD grubu ile karşılaştırıldığında ($p < 0.001$).

6.TARTIŞMA

Son yıllarda erkek üreme hastalıklarında (sperm kalite ve sayısında azalma gibi) önemli derecede artış gözlenmektedir. Çevre kirliliği ve stresli yaşam tarzı bu rahatsızlıkların sebeplerindendir (116). Artan küreselleşme ve kentleşme ile birlikte insanlar ve diğer birçok tür için büyük tehlike haline gelen önemli çevresel kirleticiler oluştu. Bu kirleticilerden biri olan dioksin ve benzeri bileşikler, ekosistemin hemen her bölümünde eser miktarlarda bulunabilen, güçlü zehirli etkisi olan çevresel kirleticilerdir (27, 117).

Dioksin ve benzeri bileşikler ile ilgili olarak en önemli konu bu bileşiklerin çevrede uzun yıllar kalıcı olmalarından kaynaklanan insan ve hayvanlarda zehirlenmelere yol açmasıdır. Zehirlenmelerde semptomlar benzer olduğundan daha çok deneysel hayvan modellerinde dioksin ailesinin en zehirli formu olan TCDD kullanılmaktadır (17, 18) . Başta kemiriciler olmak üzere birçok hayvan türünde toksisite çalışmaları yapılmış ve TCDD'nin özellikle sinir sistemi, üreme organları, endokrin sistem ve diğer birçok sistemde belirgin doku hasarı meydana getirdiği rapor edilmiştir (121, 122). Ayrıca TCDD, Uluslararası Kanser Araştırmaları Kuruluşu tarafından grup I kanserojen olarak tanımlanmıştır (123).

Uzun süre ve düşük dozlarda TCDD'ye maruz bırakılan deneklerde görülen en önemli zehirlenme belirtilerinden biri gıda alımının düşmesi, iştahsızlık ve

sonuçta ölüme kadar giden ciddi kilo kayıplarıdır (21). Hayvanlarda TCDD zehirlenmelerinde canlı ağırlık azalması yağ ve kas dokusunun kaybına bağlı olarak gelişir. Wasting (zayıflık) sendromu olarak bilinen bu durumda kilo kayıpları ölüme kadar yavaş yavaş gelişir ve ölüm anında yaklaşık %50 oranında kilo kaybı söz konusudur. Ancak ölümlerin nedeni tek başına gıda ve su alımının azalması olamayacağı aynı zamanda sindirim kanalından gıdaların emiliminin bozulması ve diğer birçok faktörün de etkili olabileceği belirtilmiştir (118). Wasting sendromu, kemirgen laboratuvar türlerinin birçoğunda görülmekle birlikte bütün hayvanların hastalıktan etkilenme derecesi aynı değildir. Farklı ırklar arasındaki varyasyonu gösteren en iyi tanımlanmış modellerden biri TCDD- duyarlı Long-Evans (Turku/AB) sıçanlar (L-E; LD₅₀9.8-17.7 µg/kg) ile TCDD- dirençli Han/Wistar (Kuopio) sıçanlar (H/W; LD₅₀>9600 µg/kg) arasındaki farklılıktır (55). Pohjanvirta ve ark. (1999) H/W ırkında özellikle zayıflık sendromuna ve letaliteye karşı görülen direnç AhR proteininin transaktivasyon domaininde meydana gelen bir nokta mutasyonu ile ilgili olduğunu belirtmiştir (56).

Biz de çalışmamızda TCDD uygulamasına bağlı olarak özellikle sadece TCDD uygulanan grupta, gelişimin ilerleyen haftalarında az kilo alımı gözledik. CH tedavisi bu klinik belirtileri nispeten düzeltmiş olmakla birlikte kontrol grubuyla karşılaştırıldığında kilo alımındaki yetersizlik hâlâ kendini göstermekte

idi. Bu bulgumuz TCDD'ye bağlı wasting sendromundan bahseden makalelerle uyumluluk göstermektedir.

Beyaz yağ dokusu TCDD toksisitesi ve zayıflık sendromu fizyolojisi arasında potansiyel olarak çok önemli bir ara yüzdür. Beyaz yağ dokusu, gıda alımının ve enerji metabolizmasının düzenlenmesine katılan bir endokrin organ olarak çalışmasının yanı sıra, bir bağışıklık organı ve TCDD gibi zehirli kimyasalların tutularak uzaklaştırıldığı önemli bir bölgedir. Linden ve ark. (2014)'nın yaptıkları çalışmada TCDD'ye maruz kalan L-E ve H/W ırkı sıçanların her ikisinde de uygulamadan 1 gün sonra bile beyaz yağ dokusunda önemli miktarda TCDD'nin biriktiği; ayrıca 4 gün sonrasında L-E ırkında önemli düzeyde kilo kaybı görüldüğü bildirilmiştir (119). Houlahan ve ark. (2014) TCDD ile oluşturulan toksisitede, özellikle zayıflık sendromu ile ilgili olarak beyaz yağ dokusunun işlevini araştırmak amacıyla, TCDD uygulamasını izleyen 1. ve 4. günlerde dioksin- duyarlı L-E ırkı ve dioksin- dirençli H/W ırkı sıçanlardan beyaz yağ dokusunu izole ederek transkriptomik profillerini analiz etmişlerdir. Bu analizin sonunda dioksin uygulamasının, L-E ırkı sıçanlarda deneyden 4 gün sonra beyaz yağ dokusunun transkriptomik profilinde, karaciğer ve hepatosit kültürlerine kıyasla orta düzeyde olumsuz etkiye neden olduğunu gözlemlemişlerdir (120).

TCDD ve benzeri bileşiklerle meydana gelen zehirlenmelerde doğrudan ölüm oranlarının arttığına dair bilgiler tam olarak belirtilmemesine karşın, bu bileşiklerin neden olduğu zehirlenmelere bağlı olarak gelişen kanser, kalp ve damar hastalıkları kaynaklı ölüm olaylarının ciddi bir şekilde arttığı bildirilmektedir (124).

Bir çalışmada TCDD ve benzeri bileşiklere maruz kalan işçilerde kalp ritim bozuklukları, hipertansiyon ve anormal periferik kan akışı riskinin yüksek olduğu ve iskemik kalp hastalığından ölümlerin önemli derecede arttığı ileri sürülmüştür (125).

Yapılan çalışmalarda TCDD'nin, hücre içinde iyon ve reaktif oksijen türlerinin birikimine neden olduğu (25, 129) ve lizozomal enzim aktivitesini önemli derecede bozarak hücre hasarına yol açtığı gözlenmiştir (25). Organoklorin bileşiklerin sitotoksik etkilerinin lizozomların morfolojisini ve işlevselliğini değiştirdiği bilinmektedir (126). Bu bileşikler çeşitli lizozomal enzimleri direkt etkileyebilmekte ve spesifik aktivitelerini değiştirip hücre ölümüne neden olmaktadır (130). Bu nedenle lizozomal stabilite, çeşitli organik ve inorganik ksenobiyotiklerle ilgili oldukça duyarlı bir stres göstergesidir (128). TCDD'nin hücre homeostazisini bozarak hücrenin şişmesine ve sonrasında rüptüre olmasına neden olduğu bildirilmiştir (131).

TCDD sitozolik Aril Hidrokarbon reseptörlerine bağlanıp, sitokrom p4501A1 gibi reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretiminde yer alan enzimlerin ekspresyonunu artırarak toksik etkisini göstermektedir (132).

Son yıllarda çevresel kirleticilerin erkek üreme fonksiyonları üzerindeki zararlı etkileri hakkında çok sayıda çalışma yapılmıştır (135). İnfertilite vakalarının %30-50' sini erkek üreme bozuklukları oluşturmaktadır. Çoğu vakada, erkek infertilitesi, gonadlarda çevresel kirleticilerin oluşturduğu hasarla ilişkilidir (138).

Erkek üreme organları dioksine oldukça duyarlıdır. TCDD'ye maruz kalmanın sperm miktarında azalmaya ve fertilitede düşüğe neden olduğu belirtilmiştir (133). ROS ve mutajenik metabolitlerin üretiminde yer alan sitokrom p4501A1 enziminin TCDD indüklü ekspresyonu glukokortikoidler ile arttığı görülmüştür (134).

Bazı kimyasal çevresel kirletici madde anti-androjenik ve /veya östrojenik etkinliğe sahip olduğundan endokrin bozucular olarak da hareket ederler (139). Laboratuvar deneyleri prenatal gelişim sırasında endokrin bozuculara maruz kalmanın kronik hastalıkların çıkmasını tetikleyebileceğini ve bireyin yaşamı boyunca üreme fonksiyonunu tehlikeye atabileceğini göstermiştir (140). Sanabria ve ark. (2016) yaptıkları çalışmada, maternal TCDD toksisitesinin, sperm morfolojisinde bozulmalara, serum testosteron seviyesinde ve cauda epididimisteki

sperm geçiş süresinde azalmalara neden olduğunu gözlemlemişlerdir. Bunun sonucunda TCDD'ye maruz kalmanın, sıçan sperm kalitesini (16, 141) ve erişkin erkek yavrularda fertilitiyi azalttığı ve bu etkilerin bir sonraki nesilde de devam ettiği rapor edilmiştir.

Testis ve günlük sperm üretiminde bulunan spermatidlerin sayısı erkek fertilitite potansiyelinin önemli bir göstergesidir. Fagi ve ark. (1998), prenatal dönemde maternal kayanaklı 25, 60 ve 300 ng/kg konsantrasyonlarda TCDD'ye maruz kalan erişkin erkek yavrularda günlük sperm üretiminin %50 oranında azaldığını gözlemlemişlerdir (142).

Yin ve ark. (2012), TCDD'nin seminifer tübül germinal epitelinde dejenerasyona, ayrıca spermatositlerde ve spermatogonyumlarda nekroza neden olarak testiküler yapıda hasar meydana getirdiğini rapor etmişlerdir (143). Yapılan bir başka çalışmada ise 10 µg/kg dozunda uygulanan TCDD'nin seminifer tübül çaplarında ve sperm sayısında azalmaya, eozinofilik dejenerasyona, maturasyon arrestine ve spermatid dev hücrelerinin ortaya çıkmasına neden olduğu bildirilmiştir (144). Çiftçi ve ark. (2012) TCDD uygulaması sonucunda seminifer tübüllerde atrofi, interstisyel bölgede multifokal nodüller ve testosteron düzeyinde azalma ayırt etmişlerdir (145).

Volz ve ark. (2005) uzun süreli TCDD'ye bağlı ROS üretiminin testislerde çeşitli hücre tiplerinde apoptozise yol açabileceğini, Sertoli ve Leydig hücrelerinde ve/veya olgunlaşmamış germ hücrelerinde hücre ölümüne neden olabileceğini bildirmişlerdir. Bu hücrelerde TCDD kaynaklı toksisitelere (özellikle gelişme sırasında) olgun sperm sayısının azalmasına ve erkek infertilitesine neden olabileceğini tespit etmişlerdir (146).

Shultz ve ark. (2003), TCDD maruziyeti sonrasında testiküler apoptoz sıklığında artış gözlemlemişlerdir (147). Sönmez ve ark. (2011) yaptıkları çalışmada TCDD uygulanan sıçanlarda kontrol grubu ile karşılaştırıldığında lipid peroksidasyonu (LPO) ve ROS'un artışı sonucunda spermatogenik hücrelerde fonksiyonel ve yapısal hasar ve aynı zamanda apoptotik hücre ölümünün meydana geldiğini saptamışlardır (148).

Yaptığımız bu çalışmada TCDD uygulanan sıçanların testis dokusunda germinal epitelde atrofi, vakuolar dejenerasyon, germ hücreleri arasında ayrılma, multinükleer spermatid dev hücreleri ve bazı tübüllerde mayoz bölünmenin belli aşamalarında duraksama gösteren germ hücreleri tespit edildi. Aynı zamanda TCDD uygulamasının testiküler germ hücrelerinde apoptotik hücre ölümünü ciddi anlamda artırmış olduğu gözlemlendi. Bu bulgular fertilitiyi olumsuz yönde

etkileyebilecek düzeydeydi. Bu anlamda bulgularımız, TCDD toksisitesiyle ilgili daha önce yapılan çalışmalarla uyumluydu.

Beytur ve ark. (2012) TCDD'nin, testiste oksidatif stresi artırarak antioksidan enzimlerini baskıladığı, epididimal spermilerin ileri hareketliliğinde ve serum testosteron düzeyinde azalmalara neden olduğunu bildirmişlerdir. (144, 145). Biz de yapılan bu çalışmada TCDD'nin serum testosteron seviyesini anlamlı olarak düşürdüğünü saptadık.

Organizmada oksidan ve antioksidanlar arasındaki denge son derece önemlidir. Aerobik metabolizma sırasında oluşan oksidatif stres, lipid peroksidasyonuna, protein ve DNA hasarına, hücre ölümüne ve kronik hastalıklara yol açmaktadır (149). Hücreler, ROS'un etkilerine karşı koymak için antioksidan savunma sistemi ile donatılmıştır (150). Antioksidan savunma sistemi genel olarak enzimatik yapıdaki antioksidan enzimler ile direkt serbest radikallere etki eden süpürücü özelliğindeki küçük moleküllerdir. Vücutta oluşan toksik maddelere karşı ilk olarak antioksidan savunma sisteminde bulunan enzimler görev yaparlar. Endojen antioksidan enzimler, biyolojik makromolekülleri oksidatif hasardan koruyan birincil savunma olarak düşünülür (151).

Jin ve ark. (2008) yaptıkları araştırmada TCDD'nin enzimatik antioksidanları azaltarak fare testislerinde oksidatif stres oluşturduğunu ve bu

durumda ROS düzeyinin yükseldiğini ortaya koymuştur. Bu veriler Hamdy AA ve ark. (2011)'nın bulguları ile benzerlik göstermektedir (152, 153).

Serbest radikallerin oluşturması muhtemel oksidatif hasarı önlemek için endojen antioksidan enzimler yetersiz kaldığında ekzojen olarak alınan antioksidanlar dokuların korunması hususunda fayda sağlamaktadırlar (149). Son yıllarda halkın ilgisi, alternatif tıp ve hastalıkların önlenmesinde flavonoid içeren diyet takviyeleri ve bitkisel ürünlerin kullanımına yönelik artmıştır (154). Flavonoidler birçok bitkide ve propolisde bulunan doğal polifenol grubu kimyasal maddelerdir. Polifenoller arasında diyetimizde en fazla bulunan flavonoidlerdir (155). Doğal bir flavonoid olan Chrysin (CH), Çin'de yaygın olarak bitki tedavisinde kullanılan, mavi tutku çiçeği, propolis ve bal gibi bitki özlerinden elde edilen ve antioksidan, anti-inflamatuar, anti-diyabetik, antibakteriyel, anti-neoplastik ve antitümör gibi birçok biyolojik özellikleri olan bir bileşiktir (156,157). 5,7- dihidroksiflavon molekül yapısında olan CH, vücutta doku hasarı oluşturan serbest radikallere karşı süpürücü özelliğinden dolayı güçlü bir antioksidan moleküldür (158).

Çiftçi ve ark. (2012) yaptıkları bir çalışmada CH'nin sperm motilitesi, sperm konsantrasyonu ve serum testosteron düzeyine olumlu etkilerinin olduğunu, anormal sperm oranında da anlamlı olarak azalmayı sağladığını tespit etmişlerdir.

Bu bağlamda sıçanlarda reproduktif sistemi olumlu etkileyebileceği ve erkek infertilitesinin tedavisinde CH'nin katkı sağlayabileceği belirtilmiştir (159).

Aksu ve ark. (2016) ağrı kesici olarak kullanılan non-steroid anti-inflamatuar özellikte bir ilaç olan parasetamole maruz bırakılan sıçanlarda, toksisite bulguları olarak sperm kalitesinde ve hareketliliğinde azalma, anormal sperm oranında, apoptozda ve MDA (lipid peroksidasyonunun bir göstergesi) düzeylerinde belirgin bir artış gözlenmiştir. Yedi gün boyunca 25 ve 50 mg/kg CH uygulamasının erkek üreme sisteminde akut parasetamol toksisitesini doza bağımlı bir şekilde azalttığı ve CH'nin bu koruma mekanizmasının antioksidan özelliğinden kaynaklanabileceği ifade edilmiştir (160).

Gambelungho ve ark. (2003) yaptıkları çalışmada CH'nin üreme organları üzerine etkisini incelemişlerdir ve sonuç olarak üreme organı ağırlıklarını önemli ölçüde değiştirmedeğini, fakat 1 günlük periyotta 50 mg/kg dozunda CH'nin sperm kalitesini olumlu yönde arttırdığını tespit etmişlerdir. CH uygulaması, sperm motilitesi ve konsantrasyonunu önemli derecede artırırken, anormal sperm oranı da azalmıştır (161).

Çalışmamızda TCDD ile birlikte uygulanan CH'nin sıçan testis dokularında nispeten koruyucu etki sağladığı, apoptotik hücre ölümünü azalttığı, serum testosteron seviyesini de nispeten arttırdığı görüldü. Bu grupta normal görünümlü

tübüllerin arasında germinal epitelinde dejenerasyon ve tübül lümenine dökülmüş immatür germ hücreleri ve spermatid dev hücrelerini içeren tübüllere de rastlandı.

Sonuç olarak TCDD çevrede kalıcılığı uzun olan toksik bir bileşiktir. İnsan vücuduna genellikle beslenme yoluyla girmekte ve yarılanma ömrü uzun olduğundan dolayı özellikle yağ dokusunda birikme eğilimi göstermektedir. TCDD serbest oksijen radikallerinin üretimine neden olarak hücrelerde membransal yapılarda hasar oluşturan lipid peroksidasyonunu artırmaktadır. Yapılan bu çalışmada TCDD uygulaması sonucunda serum testosteron düzeyinde azalma, spermatogenezin belli aşamalarında duraksama, seminifer tübül epitelinde atrofi ve germ hücrelerinde artmış apoptotik hücre ölümü gibi önemli sayılabilecek yapısal hasarlar tespit edildi. Bu hasarların TCDD'nin sebep olduğu oksidatif stres sonucu antioksidan savunma mekanizmasının bozulmasına bağlı olarak oluştuğunu düşünmekteyiz. TCDD'ye karşı koruma amacıyla ekzojen olarak kullanılan CH'nin antioksidan özelliği ile bu olumsuz etkileri nispeten düzelttiğini ayırt ettik. Bu sonuçlar TCDD'nin erkek üreme sağlığını infertiliteye sebep olacak ölçüde tehdit ettiğini, çevresel kontaminasyonlara karşı mutlaka tedbirler alınması gerekliliğini ortaya koymuş oldu.

7. KAYNAKLAR

1. Arıncı K, Elhan A. Testis Anatomisi, Anatomi 1. Cilt, 2001; 322-334.
2. Campbell- Walsh. Üroloji, Yaman Ö (Çeviren). 10. Baskı, 1. Cilt, 2014; 67-69.
3. Putz R, Pabst R. Sobotta İnsan Anatomisi Atlası. 5. Baskı, İstanbul: Beta basım yayım dağıtım,2001;190.
4. Smith, Genel Üroloji. 17. Baskı, 2009; 17.
5. Moore KL, Persaud TVN. Klinik Yönleri ile İnsan Embriyolojisi. Yıldırım M, Dalcık H (Çevirenler). 2. Baskı, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 2009;263-265.
6. Köylü H. Tıbbi Fizyoloji Klinik Anlatımlı. Nobel Tıp Kitabevi,2014; 499-501.
7. Hall JE. Guyton ve Hall Tıbbi Fizyoloji. Yegen B (Çeviren). 12. Baskı, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 2013; 973-984.
8. Eroschenko VP. Di Fiore. Histoloji Atlası Fonksiyonel İlişkileriyle, Demir R. (Çeviren).12. Baskı, Palme Yayıncılık, Ankara. 2013;477-480.
9. Eroschenko VP. Di Fiore. Histoloji Atlası Fonksiyonel İlişkileriyle, Demir R. (Çeviren).10. Baskı, Palme Yayıncılık, Ankara. 2011;353.
10. Junqueira LC, Carneiro J. Temel Histoloji. Solakoğlu S, Aytekin Y, Ahışalı B (Çevirenler). İstanbul: Barış Kitabevi, 1998; 407-415.
11. Ovalle W, Nahirney PC. Temel Histoloji. 2009;387-389.
12. Junqueira LC, Carneiro J. Temel Histoloji. Solakoğlu S, Aytekin Y (Çevirenler). İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 2009; 427-428.
13. Eşrefoğlu M. Özel Histoloji.2. Baskı,2016; 340-343.
14. Whysner J, Williams GM. 2,3,7,8-TCDD mechanistic data and risk assessment: gene regulation, cytotoxicity, enhanced cell proliferation and tumor development. Pharmacol Therapeut 1996;771:193-223.
15. Koç F, Kısa F. Dioksinler. Etlik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi,2005;16:1-2.
16. Çiftçi O. Dioksinli bileşiklerin etki mekanizması, kimyasal yapısı ve toksikokinetik özelliklerinin incelenmesi. İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi,2010;17:413-422.
17. Hu K, Bunce NJ. Metabolism of polychlorinated dibenzo-p-dioxins and related dioxin-like compounds. J Toxicol Environ Health.1999;2:183-210.

18. Çiftçi O. Elazığ ve çevresinde tüketilen tereyağlarında, dioksin ve benzeri bileşik düzeylerinin araştırılması. Fırat Ün Sağlık Bilim Derg.2008;22(2):289-292.
19. White SS, Birnbaum LS. An overview of the effects of dioxins and dioxin-like compounds on vertebrates as documented in human and ecological epidemiology. J Environ Sci and Heal C.2009;27:197-211.
20. Krasler KM, Mc Garrigle BP, Olson JR. Comparative developmental toxicity of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin in the hamster, rat and guinea pig. Toxicology 2007;229:214-225.
21. Seefeld MD, Corbett SW, Keeseey RE, Peterson RE. Characterization of the wasting syndrome in rats treated with 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin. Toxicol Appl Pharmacol 1984;73:311-322.
22. World Health Organization (WHO). Executive summary report of assessment of health risks of dioxins; re-evaluation of the tolerable Daily intake (TDI),1998.
23. Kaya C. Dioksin'in insan sağlığı üzerine etkilerinin araştırılması. Yüksek lisans tezi, Kayseri: Erciyes Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi,2013.
24. Hişmioğulları ŞE, Hişmioğulları AA, Konaş AT. Dioksin ve dioksin benzeri kimyasalların toksik etkileri. Balıkesir Sağlık Bilim Derg. 2012;1(1):23-27.
25. Jigyasi J, Kundu R. Low concentration of a dioxin (2,3,7,8-TCDD) affects the glycosidases and acid phosphatase activity in mice hepatocytes. International Dose Response Society, 2014;12:582-589.
26. Gasiewicz TA, Geiger LE, Rucci G, Neal RA. Distribution, excretion and metabolism of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin in C57BL/6J,DBA/2J and B6D2F1/J mice. Drug Metab Dispos 1983;11:397-403.
27. Fiedler H, Hutzinger O, Timms CW. Dioxins: sources of environmental load and human exposure. Toxicology and Environmental Chemistry 1990;29(3):157-234.
28. Hites RA. Dioxins: an overview and history. Environ Sci Technol 2011;45:16-20.
29. Papadopoulos A, Vassiliadou I, Costopoulos D, Papanicolaou C, Leondiadis L. Levels of dioxins and dioxin like PCBs in food samples on the greek market. Chemosphere 2003;57(5):413-419.
30. Kogevinas M. Human health effect of dioxins: cancer, reproductive and endocrine system effects. Hum Reprod Update 2001;7:331-339.

31. Aslan S, Korucu MK, Karademir A, Durmuşoğlu E. Kocaeli’nde yerel olarak üretilen yumurtalarda dioksin ve furan (PCDD/F) seviyelerinin belirlenmesi. 7. Ulusal Çevre Mühendisliği Kongresi, 24-27 Ekim İzmir, 2007;205-212.
32. IARC (ed) IARC Working Group on the evaluation carcinogenetic risks to humans: Polychlorinated dibenzo-para-dioxins an dibenzofurans. Monogr Eval Carcinog Risks Humans, Lyon, France:1997;69:4-11.
33. Davy CW. Legislation with respect to dioxins in the workplace. *Env Int* 2004;30:219-23.
34. Shan Q, Wang J, Huang F et al. Augmented atherogenesis in ApoE-null mice co-exposed to polychlorinated biphenyls and 2,3,7,8- tetrachlorodibenzo-p-dioxin. *Toxicology and Applied Pharmacology* 2014.
35. Schneider AR, Stapleton HM, Cornwell J, Baker JE. Recent declines in PAH, PCB and toxaphene levels in the northern Great Lakes as determined from high resolution sediment cores. *Environ Sci Technol* 2001;35:3809-3815.
36. Safe S. Polychlorinated biphenyls (PCBs), dibenzo-p-dioxins (PCDDs), dibenzofurans (PCDFs) and related compound: environmental and mechanistic considerations wich support the development of toxic equivalency factors (TEFs). *Crit Rev Toxicol* 1990;21:51-88.
37. Sogawa K, Numayama-Tsuruta K, Takahashi T et al. A novel induction mechanism of the rat CYP1A2 gene mediated by Ah receptor Arnt heterodimer. *Biochem Biophys Res Commun* 2004;318:746-755.
38. Nebert DW, Roe AL, Dieter MZ et al. Role of the aromatic hydrocarbon receptor and (Ah) genebattery in the oxidative stress response, cell cycle control, and apoptosis. *Biochem Pharmacol* 2000;59:65-85.
39. Nukaya M, Walisser JA, Moran SM, Kennedy GD, Bradfield CA. Aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator in hepatocytes is required for aryl hydrocarbon receptor-mediated adaptive and toxic responses in liver. *Toxicol Sci* 2010;118:554-563.
40. Yeager RL, Reisman SA, Aleksunes LM, Klaassen CD. Introducing the ‘TCDD inducible AhR-Nrf2 gene battery’. *Toxicol Sci* 2009;111:238-246.
41. Denison MS, Soshilov AA, He G, DeGroot DE, Zhao B. Exactly the same but different: promiscuity and diversity in the molecular mechanisms of action of the aryl hydrocarbon (dioxin) receptor. *Toxicol Sci* 2011;124:1-22.

42. Kopec AK, Burgoon LD, Burg AR et al. Automated dose-response analysis and comparative toxicogenomic evaluation of the hepatic effects elicited by TCDD, TCDF, and PCB 126 in C57BL/6 mice. *Toxicol Sci* 2010;118:286-297.
43. Lee CA, Lawrence BP, Kerkvliet NI, Rifkind AB. 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin induction of cytochrome P450- dependent arachidonic acid metabolism in mouse liver microsomes: evidence for species- specific differences in responses. *Toxicol App Pharm* 1998;153:1-11.
44. Hakk H, Larsen G, Feil V. Tissue distribution, excretion and metabolism of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin in the rat. *Chemosphere* 2001;42(8):975-83.
45. Miniero R, De Felip E, Ferri F, di Domenico A. An overview of Tcdd half-life in mammals and its correlation to body weight. *Chemosphere* 2001;43:839-844.
46. Weber LW, Ernst SW, Stahl BU, Rozman K. Tissue distribution and toxicokinetics of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin in rats after intravenous injection. *Fundam Appl Toxicol* 1993;21(4):523-34.
47. Timbrell J. *Introduction to Toxicology* (3rd ed) New York; Taylor and Francis Inc,2002.
48. Rohde S, Moser GA, Püpke O, McLachlam MS. Clearance of PCDD/F_s via the gastrointestinal tract in occupationally exposed persons. *Chemosphere* 1999;38:3397-3410.
49. Geyer HJ, Schramm KW, Feicht EA et al. Half-lives of tetra-, penta-, hexa-, hepta-, and octachlorodibenzo-p-dioxin in rats, monkeys, and humans-a critical review. *Chemosphere* 2002;48(6):631-44.
50. Keserci Ö, Çokarar S. Dioksin ve süt teknolojisindeki önemi. Yüksek lisans tezi, İzmir: Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Süt Teknolojisi Bölümü,2000.
51. Lida T, Hirakawa H, Matsueda T, Takenaka S, Nagayama J. Polychlorinated dibenzo-p-dioxins and related compounds in breast milk of Japanese primiparas and multiparas. *Chemosphere* 1999;38(11):2461-66.
52. Ulaszewska MM, Zuccato E, Davoli E. PCDD/F_s and dioxin-like PCB_s in human milk and estimation of infants Daily intake. A review *Chemosphere* 2011;83(6):774-82.
53. Dömötöröva M, Stachova SZ, Kocan A et al. PCDD_s, PCDF_s, dioxin-like PCB_s and indicator PCB_s in soil from and selected areas in Slovakia. *Chemosphere* 2012;89:480,485.
54. Smith AH, Lopipero P. Evaluation of the toxicity of dioxins and dioxin-like PCBs: A health risk appraisal for the New Zealand population, Final report released by the Ministry for the Environment, 2001.

55. Pohjanvirta R, Unkila M, Tuomisto J. Comparative acute lethality of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD), 1,2,3,7,8-pentachlorodibenzo-p-dioxin and 1,2,3,4,7,8-hexachlorodibenzo-p-dioxin in the most Tcdd-susceptible and the most TCDD-resistant rat strain. *Pharmacol Toxicol* 1993;73:52-56.
56. Pohjanvirta R, Viluksela M, Tuomisto JT et al. Physicochemical differences in the AH receptors of the most TCDD-susceptible and the most TCDD-resistant rat strains. *Toxicol Appl Pharmacol* 1999;155:82-95.
57. Dhanabalan S, Mathur PP, Latha P. Tcdd and corticosterone on testicular steroidogenesis and antioxidant system of epididymal sperm in rats. *Toxicology and Industrial Health* 2013;1-2.
58. Pilsner RJ, Parker M, Sergeyev O, Suvorov A. Spermatogenesis disruption by dioxins: Epigenetic reprogramming and windows of susceptibility. *Reproductive Toxicology* 2017.
59. Swan SH, Elkin EP, Fenster L. The question of declining sperm density revisited: an analysis of 101 studies published 1934-1996. *Environ Health Perspect* 2000;108:961-966.
60. Moal LJ, Rolland M, Gorla S et al. Semen quality trends in French regions are consistent with a global change in environmental exposure. *Reproduction* 2014;147:567-574.
61. Gore AC, Chappell VA, Fenton SE et al. EDC-2: the endocrine society's second scientific statement on endocrine-disrupting chemicals. *Endocr Rev* 2015;36.
62. Fernandez-Gonzalez R, Yebra-Pimentel I, Martinez-Carballo E, Simal-Gandara J. A critical review about human exposure to polychlorinated dibenzo-p-dioxins (PCDDs), polychlorinated dibenzofurans (PCDFs) and polychlorinated biphenyls (PCBs) through foods. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2015;55:1590-1617.
63. Patel S, Zhou C, Rattan S, Flaws JA. Effect on Endocrine-Disrupting chemicals on the ovary. *Biology of Reproduction* 2015;93(1):20,1-9.
64. Harvey AW, Jurgensen K, Pu X et al. Exposure to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) increases human hepatic stellate cell activation. *Toxicology* 2016;344-346:26-33.
65. Schecter A, Papke O, Ball M et al. Dioxin and dibenzofuran levels in human blood samples from Guam, Russia, Germany, Vietnam and the USA. *Chemosphere* 1992;25:1129-1134.
66. Van Der Plas SA, Lutkeschipholt I, Spenkelink B, Brouwer A. Effects of subchronic exposure to complex mixtures of dioxin-like and non-dioxin-like polyhalogenated aromatic compounds on thyroid hormone and vitamin A levels in female sprague-dawley rats. *Toxicol* 2001;59:92-100.

67. Emond C, Birnbaum LS, De Vito MJ. Physiologically based pharmacokinetic model for developmental exposures to TCDD in rat. *Toxicol* 2004;80:115-33.
68. Huwe JK. Dioxins in food: a modern agricultural perspective. *Journal Agricultural and Food Chemistry* 2002;50:1739-1750.
69. Geusau A, Schmaldienst S, Derfler K, Papke O, Abraham K. Severe 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) intoxications kinetics and trials to enhance elimination in two patients. *Arch Toxicol* 2002;76:316-325.
70. Kapoor VK, Dureja J, Chadha R. Herbals in the control of ageing. *Drug Discov Today* 2009;14(19-20):992-8.
71. Davidson GP, Decker TR. Chemopreventive role of fruits and vegetables in oropharyngeal cancer. *Nutr Clin Pract* 2009;24:250-60.
72. Abdollahi M, Bahreini-Moghadam A, Emmami B, Fooladian F, Zafarizadeh K. Increasing intracellular cAMP and cGMP inhibits cadmium-induced oxidative stress in rat submandibular saliva. *Comp Biochem Physiol C* 2003;135:331-336.
73. Abdollahi M, Ranjbar A, Shadnia S, Nikfar S, Rezaie A. Pesticides and oxidative stress. *Med Sci Monit* 2004;10:141-147.
74. Kopani M, Celec P, Danisovic L, Michalka P, Biro C. Oxidative stress and electron spin resonance. *Clin Chim Acta* 2006;364:61-66.
75. Halliwell B, Gutteridge JMC. *Free radicals in biology and medicine*. Oxford Clarendon Press 1989;188-196.
76. Atmaca E, Aksoy A. Oksidatif DNA hasarı ve kromatografik yöntemlerle tespit edilmesi. *YYÜ Veteriner Fakültesi Dergisi*, 2009;20(2):79-83.
77. Flora SJ. Role of free radicals and antioxidants in health and disease. *Cell Mol Biol* 2007;53:1-2.
78. Rayner BS, Hua S, Sabaretnam T, Witting PK. Nitric oxide stimulates myoglobin gene and protein expression in vascular smooth muscle. *Biochem J* 2009;423(2):169-77.
79. Percival M. Antioxidants. *Clinical Nutrition Insights* 1998;10:1-4.
80. Podda M, Grundmann-Kollmann M. Low molecular weight antioxidants and their role in skin ageing. *Clinical and Experimental Dermatology* 2001;26:578-582.
81. Portugal M, Barak V, Ginsburg I, Kohen R. Interplay among oxidants, antioxidants and cytokines in skin disorders: present status and future considerations. *Biomedicine and Pharmacotherapy* 2007;61:412-22.

82. Darley-USmar V, Wiseman H, Halliwell B. Nitric oxide and oxygen radicals: a question of balance. *FEBS Lett* 1995;369:131-135.
83. Davidson CA, Kaminski PM, Wolin MS. NO elicits prolonged relaxation of bovine pulmonary arteries via endogenous peroxynitrite generation. *Am J Physiol* 1997;273:437-444.
84. Yanl Li Z. Mannose receptor ligands regulate the gene expression of toll-like receptors in chicken monocytes. *J Poult Sci* 2013;50:388-395.
85. Pitsikas N. The role of nitric oxide in the object recognition memory. *Behav Brain Res* 2015;285:200-207.
86. Koppers AJ, Garg ML, Aitken RJ. Stimulation of mitochondrial reactive oxygen species production by unesterified, unsaturated fatty acids in defective human spermatozoa. *Free Radic Biol Med* 2010;48:112-119.
87. Spickett CM. The lipid peroxidation product 4-hydroxy-2-nonenal: advances in chemistry and analysis. *Redox Biol* 2013;1:145-152.
88. Moazamian R, Polhemus A, Connaughton H et al. Oxidative stress and human spermatozoa: diagnostic and functional significance of aldehydes generated as a result of lipid peroxidation. *Mol Hum Reprod* 2015;21:502-515.
89. Luczaj W, Skrzydlewska E. DNA damage caused by lipid peroxidation products. *Cell Mol Biol Lett* 2003;8:391-413.
90. Aitken RJ, Whiting S, De Luliis GN et al. Electrophilic aldehydes generated by sperm metabolism activate mitochondrial reactive oxygen species generation and apoptosis by targeting succinate dehydrogenase. *J Biol Chem* 2012;287:33048-33060.
91. Özvaran MK. Malign mezotelyomada gen tedavisi. *Toraks Dergisi*, 2004;5(2):110-115.
92. Altunkaynak ZB, Özbek E. Programlanmış hücre ölümü; apoptoz nedir? *Tıp Araş Derg* 2008;6(2):93-104.
93. Öktem S, Özhan HM, Özol D. Apoptozisin önemi. *Toraks Dergisi*,2001;2(1):91-95.
94. Norbury CJ, Hickson ID. Cellular responses to DNA damage. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2001;41:367-401.
95. Weng LS, Taylor LS, Morshedi M et al. Caspase activity and apoptotic markers in ejaculated human sperm. *Mol Hum Reprod* 2002;8(10):984-991.
96. Sakkas D, Bizzaro D, Manicardi CG. Chromatin damage and male infertility in: the genetics of male infertility. *Humana Press Totowa New Jersey* 2007;304-306.

97. Harwell B. 'Biochemistry of oxidative stress', biochemical society transactions, 2007;1147-1150.
98. Bouayed J, Bohn T. Exogenous antioxidants-double-edged swords in cellular redox state: health beneficial effects at physiologic doses versus deleterious effects at high doses, oxidative medicine and cellular longevity. pp 2010;228-237.
99. Liu RH. Potential synergy of phytochemicals in cancer prevent: mechanims of action, J. Nutr 2004;134: 3479-3485.
100. Heim KE, Tagliaterro AR, Bolibya DJ. Flavonoid antioxidants; Chemistry, metabolism and structure-activity relationship. J Nutr Biochem 2002;13:572-584.
101. Serafini M, Villano D, Spera G, Pellegrini N. Redox molecules and cancer prevention: the importance of understanding the role of the antioxidant network. Nutr Cancer 2006;56(2):232-240.
102. Gibellini L, Pinti M, Nasi M. Quercetin and cancer chemoprevention. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine 2011.
103. Kocabaş N. Homosisteinin indüklediği oksidatif stres üzerinde quercetin'in koruyucu etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Afyon: Afyonkarahisar Kocatepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2008.
104. Wang L, Lee IM, Zhang SM et al. Dietary intake of selected flavonols, flavones, and flavonoid-rich foods and risk of cancer in middle- aged and older women. Am J Clin Nutr 2009;89(3): 905-912.
105. Gresa- Arribas N, Serratosa J, Saura J, Sola C. Inhibition of CCAAT/enhancer binding protein and expression by chrysin in microglial cells results in anti-inflammatory and neuroprotective effects. J Neurochem 2010;115(2):526-536.
106. Lakhanpal P, Rai DK. Quercetin: a versatile flavonoid. Journal of Medical 2007;2(2):22-37.
107. He H, Huang Y, Zhang Q, Wang JR, Mei X. Zwitterionic cocrystals of flavonoids and proline: solid-state characterization, pharmaceutical properties, and pharmacokinetic performance. Cryst Growth Des 2016;16: 2348-2356.
108. <http://en.wikipedia.org/wiki/Chrysin>. 08.07.2015
109. Pushpavalli G, Kalaiarasi P, Veeramani C, Pugalendi KV. Effects of chrysin on hepatoprotective and antioxidant status in d-galactosamine-induced hepatitis in rats. Eur J Pharmacol 2010;631: 36-41.

110. Shin EK, Kwon HS, Kim YH, Shin HK, Kim JK. Chrysin, a natural flavone, improves murine inflammatory bowel diseases. *Biochem Biophys Res Commun* 2009;381:502-507.
111. Yang F, Jin H, Pi J et al. Anti-tumor activity evaluation of novel chrysin- organogermanium (IV) complex in MCF-7 cells. *Bioorg Med Chem Lett* 2013;23: 5544-5551.
112. Khoo BY, Chua SL, Balaram P. Apoptotic effects of chrysin in human cancer cell lines. *J Mol Sci* 2010;11: 2188-2199.
113. Meinhardt U, Mullis PE. The essential role of the aromatase /P450 arom. *Semin Reprod Med* 2002;20: 277-284.
114. Jeong HJ, Shin YG, Kim IH, Pezzuto JM. Inhibition of aromatase activity by flavonoids. *Arch Pharm Res* 1999;22: 309-312.
115. Gambelunghe C, Rossi R, Somavilla M et al. Effects of chrysin on urinary testosterone levels in human males. *J Med Food* 2003;6: 387-390.
116. Mendiola J, Torres-Cantero AM, Agarwal A. Lifestyle factor and male infertility. *Arch of Med Sci* 2009;5(1A): S3-S2.
117. Sciallo EM, Dong B, Vogel CF, Matsumura F. Characterization of the pattern of the nongenomic signaling pathway through which TCDD- induces early inflammatory responses in U937 human macrophages. *Chemosphere* 2009;74: 1531-1537.
118. Mitrou PI, Dimitriadis G, Raptis SA. Toxic effects of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin and related compounds. *Eur J Intern Med* 2001;12: 406-411.
119. Linden J, Lensu S, Pohjanvirta R. Effect of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) on hormones of energy balance in a TCDD-sensitive and a TCDD-resistant rat strain. *Int J Mol Sci* 2014;15: 13938-13966.
120. Houlahan KE, Prokopc SD, Moffat ID et al. Transcriptional profiling of rat hypothalamus response to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-rho-dioxin. *Toxicology* 2014;328: 93-101.
121. Lin CH, Juan SH, Wang CY et al. Neuronal activity enhances aryl hydrocarbon receptor-mediated gene expression and dioxin neurotoxicity in cortical neurons. *J Neurochem* 2008;104: 1415-1429.
122. Latchoumycandane C, Chita KC, Mathur PP. 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) induces oxidative stress in the epididymis and epididymal sperm of adult rats. *Arch Toxicol* 2003;77: 29-41.
123. International Agency for Research on Cancer. Polychlorinated dibenzo-para-dioxins. IARC. Lyon, France 1997;69: 333-343.

124. USEPA. Exposure and human health reassessment of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin and related compounds. Washington, DC 2004.
125. Calvert GM, Wall DK, Sweeney MH, Fingerhut MA. Evaluation of cardiovascular outcomes among US workers exposed to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin. *Environ Health Perspect* 1998;106(2):635-643.
126. Moore MN. Lysosomal changes in the response of molluscan hepatopancreatic cells to extracellular signals. *Histo J* 1991;23: 495-500.
127. Moore MN, Widows J, Cleary JJ et al. Responses of the mussels *mytilus edulis* to copper and phenanthrene. *Mar Env Res* 1984;14: 167-183.
128. Camus L, Grosvik BE, Borseth JF, Jones MB, Depledge MH. Stability of lysosomal and cell membranes in haemocytes of the common mussel (*mytilus edulis*): effect of low temperatures. *Mar Env Res* 2000;54: 547-551.
129. Jigyasi J, Kundu R. Low dose TCDD affects membrane bound ion dependent ATPases in mice liver. *IOSR J env Sci Tox Food Tech* 2013;2: 15-19.
130. Bhuva K, Raja J, Pathak S et al. Alteration in the activity of few lysosomal enzymes in the kidney and intestine of mice exposed to low concentration of PCB aroclor 1254, under in vitro condition. *J Env Sci Toxicol Food Tech* 2014;8(2): 89-94.
131. Pathak S, Kundu R. Short-term PCB (aroclor 1254) toxicity on few phosphatases in mice brain. *Dose Res* 2013;11(1): 1-8.
132. Androutsopoulou VP, Tsatsakis AM, Demetrios AS. Cytochrome p450 CYP1A1: wide roles in cancer progression and prevention. 2009;9:187.
133. Gray LE Jr, Ostby J, Furr J et al. Effects of environmental antiandrogens on reproductive development in experimental animals. *Human Reproduction Update* 2001;7(3): 248-264.
134. Bielefeld KA, Lee C, Riddick DS. Regulation of aryl hydrocarbon receptor expression and function by glucocorticoids in mouse hepatoma cells. *Drug Metab Dispos* 2008;36(3): 543-551.
135. Mathur PP, Saradha B, Vaithinathan S. Impact of environmental toxicants on testicular function. *Immun Endoc Metab Agents in Med Chem* 2008;8: 79-90.
136. Sinclair ND. Male infertility: nutritional and environmental considerations. *Alternative Med* 2000;5(1): 28-38.

137. Beischlag TV, Morales JL, Hollingshead BD, Perdew GH. The aryl hydrocarbon receptor complex and the control of gene expression. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr* 2008;18(3): 207-250.
138. Parks LG, Lambright CS, Orlando EF et al. Masculinization of female mosquitofish in kraft mill effluent-contaminated Fenholloway River water is associated with androgen receptor agonist activity. *Toxicol Sci* 2001;62: 257-267.
139. Christiansen S, Scholze M, Dalgard M et al. Synergistic disruption of external male sex organ development by a mixture of four anti-androgens. *Env Health Persp* 2009;117: 1839-1846.
140. Sanabria M, Cuciolo MS, Guerra MT et al. Sperm quality and fertility in rats after prenatal exposure to low doses of TCDD: A three-generation study. *Toxicol* 2016;65: 29-38.
141. Faqi AS, Dalsenter PR, Merker HJ, Chahoud I. Reproductive toxicity and tissue concentrations of low doses of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin in male offspring rats exposed throughout pregnancy and lactation. *Toxicol Appl Pharmacol* 1998;150:383-392.
142. Yin HP, Xu XQ, Wang Y. Effects of vitamin E on reproductive hormones and testis structure in chronic dioxin-treated mice. *Toxicol* 2012;28(2): 152-161.
143. El-Sabeawy F, Wang S, Overstreet J et al. Treatment of rats during pubertal development with 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin alters both signaling kinase activities and epidermal growth factor receptor binding in the testis and the motility and acrosomal reaction of sperm. *Toxicol Appl Pharm* 1998;150(2): 427-442.
144. Çiftçi O, Aydın M, Özdemir İ, Vardı N. Quercetin prevents 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin-induced testicular damage in rats. *J Andrology* 2012: 164-173.
145. Beytur A, Çiftçi O, Aydın M et al. Protocatechuic acid prevents reproductive damage caused by 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) in male rats. *Andrologia* 2012;44: 454-461.
146. Volz DC, Bencic DC, Hinton DE, Law JM, Kullman SW. 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) induces organ-specific differential gene expression in male Japanese Medaka (*oryzias latipes*). *Toxicol Sci* 2005;85: 572-584.
147. Schultz R, Suominen J, Varre T et al. Expression of aryl hydrocarbon receptor and aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator messenger ribonucleic acids and proteins in rat and human testis. *Endocrinology* 2003;144: 767-776.

- 148.Sönmez M, Türk G, Çeribaşı AO, Sakin F, Ateşşahin A. Attenuating effect of lycopene and ellagic acid on 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin-induced spermiotoxicity and testicular apoptosis. *Durg and Chemical Toxicology* 2011;34(4): 347-356.
- 149.Koçyiğit A, Selek Ş. Eksojen antioksidanlar iki yönü keskin kılıçlardır. *Bezmialem Science* 2016;2: 70-5.
- 150.Halliwell B, Cross CE. Oxygen-derived species: their relation to human disease and environmental stress. *Environ Health Perspect* 1994;102: 5-12.
- 151.Sun Y. Free radicals, antioxidant enzymes, and carcinogenesis. *Free Radic Biol Med* 1990;8(6): 583-599.
- 152.Jin MH, Hong CH, Lee HY, Kang HJ, Han SW. Enhanced TGF-beta 1 is involved in 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) induced oxidative stress in C57BL/6 mouse testis. *Toxicol Lett* 2008;178: 202-209.
- 153.Hamdy AA Aly, Rasha M Khafagy. 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) induced cytotoxicity accompanied by oxidative stress in rat Sertoli Cells: possible role of mitochondrial fractions of Sertoli cells. 2011;252: 273-280.
- 154.Sparreboom A, Cox MC, Acharya MR, Figg WD. Herbal remedies in the United States: potential adverse interactions with anticancer agents. *J Clin Oncol* 2004;22: 2489-2503.
- 155.Kawai Y. B-glucuronidase activity and mitochondrial dysfunction: the sites where flavonoid glucuronides act as anti-inflammatory agents. *J Clin Biochem Nutr* 2014;54(3): 145-150.
- 156.Yao Y, Lin G, Xie Y et al. Preformulation studies of myricetin: a natural antioxidant flavonoid. *Pharmazie* 2014;69(1): 19-26.
- 157.Sirovina D, Orsolich N, Koncic Z et al. Quercetin vs chrysin: effect on liver histopathology in diabetic mice. *Hum Exp Toxicol* 2013;32(10): 1058-1066.
- 158.Rehman MU, Tahir M, Khan AQ et al. Chrysin suppresses renal carcinogenesis via amelioration of hyperproliferation, oxidative stress and inflammation: plausible role of NF- κ B. *Toxicol* 2013;216: 146-58.
- 159.Çiftçi O, Özdemir İ, Aydın M, Beytur A. Beneficial effects of chrysin on the reproductive system of adult male rats. *Andrologia* 2012;44: 181-186.
- 160.Aksu EH, Özkaraca M, Kandemir FM et al. Mitigation of paracetamol-induced reproductive damage by chrysin in male rats via reducing oxidative stress. *Andrologia* 2016;48: 1145-1154.

161.Gambelunghe C, Rossi R, Sommovilla M et al. Effects of chrysin on urinary testosterone levels in human males. *J Med Food* 2003;6(4): 387-90.



8. ÖZGEÇMİŞ

17.12.1985 yılında Malatya'da doğdum. Lise öğrenimimi Malatya'da tamamladım. 2007 yılında Konya Selçuk Üniversitesi Ebelik bölümünden mezun oldum. 2013 yılından beri Elazığ Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nde çalışmaktayım. 2013 yılı bahar döneminde Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıp Programı Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimime başladım.