

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

**PREPUBERTAL DÖNEMDE AKRİLAMİD İLE**  
**OLUŞTURULMUŞ TESTİKÜLER HASAR ÜZERİNE**  
**ALL -TRANS RETİNOİK ASİDİN ETKİLERİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**  
**Şakile HARMAN ORUÇ**

**2015**

## ONAY SAYFASI

Prof. Dr. Mustafa KAPLAN  
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

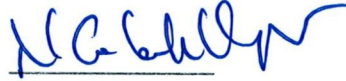
Bu tez Yüksek Lisans standartlarına uygun bulunmuştur.

Prof. Dr. Enver OZAN  
Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Başkanı



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

Danışman  
Prof. Dr. Neriman ÇOLAKOĞLU

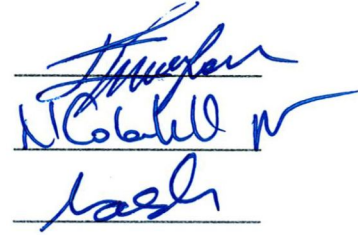


Yüksek Lisans Sınavı Jüri Üyeler

Prof.Dr. i. Enver OZAN

Prof.Dr. Neriman ÇOLAKOĞLU

Prof.Dr. Nigar VARDI



## İTHAF SAYFASI

*Danışman hocam,*

*Sayın Prof. Dr.Neriman ÇOLAKOĞLU' na ...*

## TEŞEKKÜR

*Yüksek lisans eğitimimin başından beri her türlü ilgisini ve desteğini gördüğüm,*

*her zaman bilgisinden yararlandığım çok kıymetli danışman hocam,*

*sayın Prof. Dr. Neriman ÇOLAKOĞLU' na,*

*Anabilim dalı başkanımız sayın Prof. Dr. İ. Enver OZAN'a,*

*Eğitim ve tez hayatımda bilgi, beceri ve deneyimlerini bizden esirgemeyen,*

*her zaman yanımda olan çok değerli hocalarım*

*Prof. Dr. Leyla CANPOLAT KOYUTÜRK' e, Doç. Dr. Ozlem DABAK'a,*

*Yrd. Doç. Dr. Tuncay KULOĞLU 'na, Yrd. Doç. Dr. Nevin KOCAMAN ile*

*Arş. Gör. Nalan KAYA'ya,*

*Biyokimya anabilim dalından Doç. Dr. Dilara KAMAN'a*

*Tez hayatım boyunca yuva sıcaklığında yakınlık kurduğumuz ve*

*ailem gibi olan çok değerli arkadaşlarım Kamile Esin Taşdemir'e, Osman Fatih*

*YILMAZ' a, Songül YILMAZ'a, Ahmet TÜRK'e ve Emine SARMAN'a*

*Bu zorlu süreçte desteğini her zaman hissettiğim*

*Sevgili Füsun ERHAN'a*

*Hayatımın her anında desteklerini hep yanımda hissettiğim,*

*arkamda hep itici güç olan canım ailem ve eşime*

*Tezime sağladığı finansmandan dolayı Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma*

*Proje Birimi (FÜBAP)' ne çok teşekkür ederim.*

## İÇİNDEKİLER

<b>BAŞLIK SAYFASI</b>	<b>ii</b>
<b>ONAY SAYFASI</b>	<b>ii</b>
<b>İTHAF SAYFASI</b>	<b>ii</b>
<b>İÇİNDEKİLER</b>	<b>v</b>
<b>ŞEKİLLER LİSTESİ</b>	<b>viii</b>
<b>TABLolar LİSTESİ</b>	<b>xi</b>
<b>KISALTMALAR LİSTESİ</b>	<b>xii</b>
<b>1. ÖZET</b>	<b>1</b>
<b>2. ABSTRACT</b>	<b>3</b>
<b>3. GİRİŞ</b>	<b>5</b>
3.1. Testis Histolojisi	5
3.1.1. Testisler	5
3.1.2. Seminifer Tübüller	7
3.1.3. Spermatojenesis	9
3.1.4. Spermiojenesis	11
3.1.5. Golgi Fazı	12
3.1.6. Şapka Fazı	12
3.1.7. Akrozomal Evre	13
3.1.8. Matürasyon (Olgunlaşma) Evresi	14
3.1.9. Sertoli Hücreleri	15
3.1.9.1. Fagositoz	17
3.1.9.2. Salgılama	17
3.1.9.3. Anti-Müllerian Hormon Üretimi	18
3.1.9.4. Kan-Testis Bariyeri	18
3.1.9.5. İnhibin B Üretimi	18
3.1.10. İnterstisyel Doku ve Leydig Hücresi	18
3.2. Testis Embriyolojisi	20
3.2.1. Genital Sistemin Gelişimi	20
3.2.2. Gonadların Gelişimi	20
3.2.3. Farklanmamış Gonad	21

3.2.4. Primordiyal Germ Hücreleri	22
3.2.5. Cinsiyetin Belirlenmesi	23
3.2.6. Testislerin Gelişimi	24
3.2.7. Genital Kanalların Gelişimi	25
3.2.8. Erkek Genital Kanal ve Bezlerin Gelişimi	25
3.2.9. Seminal Bezler	26
3.2.10. Prostat	26
3.2.11. Bulbouratral Bezler	26
3.2.12. Testislerin İnişi	27
3.3. Testis Anatomisi	29
3.3.1. Erkek Genital Organları	29
3.3.2. Testisler ve Skrotom	29
3.3.3. Testisin Yapısı	30
3.3.4. Testis Damar ve Sinirleri	32
3.3.5. Epididim (Epididymis) ve Duktus deferens (Ductus deferens)	33
3.4. Akrilamid	34
3.4.1. Akrilamid'in Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri	34
3.4.2. Akrilamid'in Kullanım Alanları	35
3.4.3. Akrilamidin Oluşum Mekanizması	35
3.4.3.1. Maillard Reaksiyonu	37
3.4.4. Akrilamidin Sağlık Üzerine Etkileri	38
3.4.5. Besinlerdeki Akrilamid Oluşumunu Etkileyen Faktörler ve Akrilamid'i Azaltma Yolları	41
3.5. All Trans Retinoik Asid	42
3.5.1. All-Trans Retinoik Asidin Bulunuşu	45
3.5.2. All-Trans Retinoik Asidin Etki Biçimi	46
3.5.3. All-Trans Retinoik Asidin Fonksiyonları	46
3.5.4. All-Trans Retinoik Asidin Yetersizliği	49
3.6. Galektinler	50
3.6.1. Galektin-3	51
<b>4. GEREÇ VE YÖNTEM</b>	<b>54</b>
4.1. Deneklere Uygulama Planı	55

4.2. İmmünohistokimya	56
4.3. Enzim-Bağlı İmmün Assay Yöntemi (ELISA)	57
4.4. İstatistik	57
<b>5. BULGULAR</b>	<b>58</b>
5.1. Klinik Bulgular	58
5.2. Işık Mikroskopik Bulgular	59
5.3. İmmünohistokimyasal Bulgular	65
5.3. Semikantitatif Analiz	69
5.4. Serum Testosteron Düzeyleri	70
<b>6. TARTIŞMA</b>	<b>71</b>
<b>7. KAYNAKLAR</b>	<b>79</b>
<b>8. ÖZGEÇMİŞ</b>	<b>94</b>

## ŞEKİLLER LİSTESİ

<b>Şekil 1.</b>	Testisin Hematoksilen- Eozin boyama ile mikroskopik görüntüsü	6
<b>Şekil 2.</b>	Testiste genital kanalların gösterimi	7
<b>Şekil 3.</b>	Testiste Seminifer tübülün ve Leydig hücrelerinin mikroskopik görüntüsü	8
<b>Şekil 4.</b>	Seminifer tübülün mikroskopik yapısı	9
<b>Şekil 5.</b>	Spermatogez aşamalarının gösterimi	10
<b>Şekil 6.</b>	Germ hücrelerinin klonal özelliğini gösteren çizim	11
<b>Şekil 7.</b>	Spermiyogenezis süresince spermatidlerde ortaya çıkan başlıca değişiklikler	14
<b>Şekil 8.</b>	Seminifer tübülde Sertoli hücrelerinin mikroskopik görüntüsü	16
<b>Şekil 9.</b>	Üç haftalık embriyoda, yolk kesesi duvarında, allantois bağlantısınayakın bir yerde primordial germ hücrelerini gösteren şema.	21
<b>Şekil 10.</b>	Altı haftalık embriyonun lumbal bölgeden geçen transvers kesitinde, primitif cinsiyet kordonlarıyla birlikte farklanmamış gonadın görünümü.	22
<b>Şekil 11.</b>	Akrilamid'in iki boyutlu moleküler yapısı	34
<b>Şekil 12.</b>	Akrilamidin üç boyutlu moleküler yapısı	34
<b>Şekil 13.</b>	Retinoik Asidin ( vitamin 1 ve vitamin 2) iki boyutlu moleküller yapısı	43
<b>Şekil 14.</b>	Retinoik asidin üç boyutlu moleküller yapısı	44
<b>Şekil 15.</b>	Retinoik asidin metabolizması	45
<b>Şekil 16.</b>	Görme olayı sırasında ışığın retina üzerine düşmesi ile rodopsin yapısında yer alan 11-cis-retinal izomerasyona uğrayarak 11-cis çift bağı trans şekline dönüşmesi	47
<b>Şekil 17.</b>	11-cis-retinal rodopsin'in parçalanması ile açığa çıkan protein (opsin) ile karanlıkta birleşerek yeniden rodopsinin oluşması	48
<b>Şekil 18.</b>	Galektin-3 proteinin kristal yapısı	52



<b>Şekil 19.</b>	ACR uygulanmış sıçanlarda paraplejik arka bacaklar, genel postural	58
<b>Şekil 20.</b>	ACR uygulanmış sıçanlarda genel postüral bozukluk, arka bacak kaslarında güçsüzlük ve parapleji.	59
<b>Şekil 21.</b>	Kontrol grubu. Seminifer tübül epiteli (turuncu ok), interstisyel bölgede yer alan Leydig hücreleri (mavi ok) normal yapıda ayırt edilmekte	60
<b>Şekil 22.</b>	Kontrol grubu. Seminifer tübülü çevreleyen bazal membran (mavi ok) ve interstisyel bölgede yer alan Leydig hücreleri (turuncu ok), normal yapıda gözlenmekte.	60
<b>Şekil 23.</b>	ACR grubu. Seminifer tübül epitelinde atrofi (yıldız), vakuolizasyon (V) ve seminifer tübül lümenine dökülmüş imatür spermatogenik seriye ait olan hücreler (turuncu ok) dikkat çekmekte.	61
<b>Şekil 24.</b>	ACR grubu. Seminifer tübüllerde multinükleer dev hücreler (mavi ok) ve interstisyel bölgede ödem ayırt edilmekte.	61
<b>Şekil 25.</b>	ACR grubu. Seminifer tübül epitelinde atrofi (kırmızı yıldız), vakuolizasyon (V) ve interstisyel bölgede ödem ayırt edilmekte (siyah yıldız)	62
<b>Şekil 26.</b>	ACR grubu. Seminifer tübülde atrofi (kırmızı ok), kontürleri düzensiz seminifer tübüller (mavi ok) ayırt edilmekte.	62
<b>Şekil 27.</b>	ACR+ATRA grubu. Seminifer tübül epitelinde metafaz aresti (mavi ok) gözlenmekte. Masson'un üçlü boyaması.	63
<b>Şekil 28.</b>	ACR+ATRA grubu. Seminifer tübül epitelinde vakuolizasyon (mavi ok) dikkat çekmekte. Masson'un üçlü boyaması.	63
<b>Şekil 29.</b>	ACR+ATRA grubu. Seminifer tübül epitelinde atrofi (yıldız) gözlenmekte. Masson'un üçlü boyaması.	64
<b>Şekil 30.</b>	ATRA grubu: Seminifer tübül epitelini çevreleyen bazal membran (turuncu ok) ve interstisyel Leydig hücreleri (mavi ok) normal yapıda ayırt edilmekte.	64

- Şekil 31.** Kontrol grubu. Seminifer tübül epitelini oluşturan hücrelerde ve interstisyel Leydig hücrelerinde galektin-3 immün reaktivitesi gözlenmemekte. 66
- Şekil 32.** ACR grubu. Seminifer tübül epitelinde atrofi (yıldız) ve interstisyel Leydig hücrelerinde +3 şiddetinde Galektin-3 immün reaktivitesi. 66
- Şekil 33.** ACR grubu. Seminifer tübül epitelinde multinükleer dev hücre (turuncu ok) ve interstisyel Leydig hücrelerinde (siyah ok) +3 şiddetinde Galektin-3 immün reaksiyonu. 400x 67
- Şekil 34.** ACR grubu. Seminifer tübül epitelinin bazal kompartmanında yer alan spermatogenik hücrelerde (siyah ok) ve interstisyel Leydig hücrelerinde (turuncu ok) +3 şiddetinde Galektin-3 immün reaksiyonu. 67
- Şekil 35.** ACR+ATRA grubu. Seminifer tübülün bazal kompartmanında bulunan spermatogenik hücrelerin (siyah ok) ve interstisyel Leydig hücrelerinin (mavi ok) +3 şiddetindeki Galektin-3 immünreaktivitesi. 68
- Şekil 36.** ATRA grubu. Seminifer tübül epitelinin ve interstisyel Leydig hücrelerinin Galektin-3 negatifliği. 68

## TABLÖLAR LİSTESİ

<b>Tablo 1.</b> Deney Hayvanlarına Verilen sıçan Yeminin İçeriği	54
<b>Tablo 2.</b> İmmünohistokimyasal Boyanmanın Şiddeti	69
<b>Tablo 3.</b> İmmünohistokimyasal Boyanmanın Yaygınlığı	69
<b>Tablo 4.</b> Sıçanların Serum Testosteron Düzeyleri	70

## KISALTMALAR LİSTESİ

<b>ABP</b>	: Androjen - Bağlayıcı Protein
<b>ACR</b>	: Akrilamid
<b>AMH</b>	: Antimüllerian Hormon
<b>ATRA</b>	: All - trans - retinoik - asit
<b>DER</b>	: Düz Endoplazmik Retikulum
<b>DNA</b>	: Deoksiribonükleik Asit
<b>ELISA</b>	: Enzim - Bağlı İmmün Assay Yöntem
<b>FSH</b>	: Folikül Uyarıcı Hormon
<b>Gal - 3</b>	: Galektin - 3
<b>GSH</b>	: Redükte Glutadyon
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	: Hidrojen Peroksit
<b>hGC</b>	: İnsan Karyonik Gonadotropin
<b>İ.P</b>	: İntraperitoneal
<b>LH</b>	: Lüteinizan Hormon
<b>NADH</b>	: Nikotinamid Adenin Dinükleotit
<b>PAS</b>	: Periodic Acid Schiff
<b>TBF</b>	: Testis Belirleyici Faktör

## 1. ÖZET

Akrilamid, özellikle karbonhidrattan zengin yiyeceklere ısıtılma işlemi uygulanmasıyla açığa çıkan, suda çözünebilen nörotoksik, genotoksik ve karsinojenik etkili bir kimyasaldır. All-trans retinoik asit (ATRA) testiküler gelişim ve erkek fertilitesi için gerekli olan bir A vitamini metabolitidir. Biz bu çalışmada prepubertal dönemde akrilamid toksisitesi ile oluşturulan testiküler hasar üzerine all-trans retinoik asidin (ATRA) koruyucu etkilerini ve inflamasyon ve fibrozis süreçlerinde üretildiği düşünülen galektin-3 immünreaktivitesini belirlemeyi amaçladık.

Çalışmamızda 4 haftalık toplam 24 adet Wistar Albino cinsi erkek sıçan kullanıldı. Sıçanlar 4 gruba ayrıldı. Grup I' deki sıçanlar kontrol grubu olarak belirlendi. Grup II' deki sıçanlara 4 hafta boyunca intraperitoneal (i.p) yolla 40 mg/kg/gün akrilamid enjekte edildi, Grup III' deki sıçanlara 4 hafta boyunca i.p yolla 40 mg/kg/gün akrilamid ile birlikte 4 hafta boyunca oral gavajla 5 mg/kg/gün all trans retinoik asit uygulandı ve Grup IV'teki sıçanlara ise 4 hafta boyunca oral gavajla 5 mg/kg/gün all trans retinoik asit verildi. Deney sonunda sıçanlar anestezi altında dekapite edildi. Deneklerden serum/testosteron düzeyi ölçümü için kan örnekleri ve histopatolojik incelemeler için testis dokuları alındı. Rutin doku hazırlama yöntemi ile parafin bloklar hazırlandı. Parafin bloklardan 5µm kalınlığında doku kesitleri alınıp histokimyasal ve immünohistokimyasal yöntemlerle boyandı ve incelendi.

Histopatolojik incelemelerde kontrol grubu testiküler dokularının seminifer tübül epiteli ve interstisyel alan normal görünümü izlendi. Akrilamid uygulamasına bağlı olarak seminifer tübül epitelinde vakuolizasyon, atrofi,

multinükleer dev hücre oluşumu ve tübül lumeninde immatür spermatogenik seri hücre döküntüleri ayırt edildi. Ayrıca yer yer interstisyel bölgede ödematöz bulgular saptandı. Akrilamid ile birlikte ATRA uygulanan deneklere ait testiküler dokuda belirgin bir korunma gözlenmekle beraber bu grupta da birkaç seminifer tübülde vakuolizasyon ve atrofi dikkati çekti. Sadece ATRA uygulanan gruba ait doku kesitleri kontrol ile benzerdi. Galektin -3 immünreaktivitesi açısından incelendiğinde grup ACR ve ACR+ATRA'da spermatogenik ve Leydig hücrelerinde belirgin bir işaretlenme dikkati çekerken, grup kontrol ve grup ATRA'da galektin-3 ekspresyonu gözlenmedi. Serum testosteron düzeyi ölçümlerinde akrilamid uygulamasının, serum testosteron düzeyini anlamlı bir şekilde azalttığı saptandı.

Bu çalışmanın sonucunda prepubertal dönemde maruz kalınan akrilamidin testiste yapısal ve fizyolojik anlamda son derece önemli hasarlara yol açtığı gözlemlendi. Bu durum özellikle "fast food" yeme alışkanlığına sahip gelişmekte olan çocukları infertilite yönünden tehdit edebilecek düzeydedir. Ayrıca seminifer tübül dejenerasyonu ile galektin-3 immünreaktivitesi arasında pozitif bir korelasyon olduğu saptandı. ATRA'nın ise akrilamidin sebep olduğu hasara karşı belirgin koruma sağladığı tespit edildi.

**Anahtar Kelimeler:** Akrilamid, All-Trans Retinoik Asit, Galektin-3, Testis, İmmünohistokimya.

## **2. ABSTRACT**

### **EFFECTS OF ALL TRANS RETINOIC ACID ON TESTICULAR DAMAGE INDUCED BY ACRYLAMIDE DURING PREPUBERTAL PERIOD**

Acrylamide is a water soluble and neurotoxic, genotoxic and probably carcinogenic chemical appeared through heat treatment especially on carbohydrate rich foods. All-trans retinoic acid (ATRA) is a vitamin A metabolite essential for testicular development and male fertility. In this study, we aimed for identifying the protective effects of all-trans retinoic acid (ATRA) on testicular damage caused by acrylamide toxicity during prepubertal period and galectin-3 immunoreactivity believed to be generated in the inflammation and fibrosis processes.

24 Wistar Albino species 4 week old male rats were used in this study. The rats were divided into 4 groups. The rats in Group I were identified as the control group. The rats in Group II were injected 40 mg/kg/day acrylamide for 4 weeks; the rats in Group III were administered 40 mg/kg/day acrylamide and 5 mg/kg/day all-trans retinoic acid, for 4 weeks and the rats in Group IV were administered 5 mg/kg/day all-trans retinoic acid for 4 weeks. At the end of the experiment, the rats were decapitated under anesthesia. Blood samples for measurement of serum/testosterone levels and testicular tissues for histopathologic analyses were taken from the all of rats. Paraffin blocks were prepared with the routine tissue preparation method. 5µm thick tissue sections were obtained from the paraffin blocks and stained with histochemical and immunohistochemical methods and than examined.

In histopathologic analyses, seminiferous tubule epithelium and interstitial region of the control group testicular tissues had a normal appearance. Acrylamide injection caused to, vacuolization, atrophy, multinuclear giant cell formations in the seminiferous tubule epithelium and rashes of cells of immature spermatogenic series were distinguished in the tubule lumen. Furthermore, edematous findings were observed sporadically in the interstitial area. Vacuolization and atrophy were observed in some of seminiferous tubules. Although ATRA administration provided prominent protection in the testicular tissue against acrylamide intoxication. The tissue sections of the group only administered ATRA were similar to those of the control group. Examination of galectin-3 immunoreactivity, spermatogenic and Leydig cells were significantly marked in groups II and III while galectin-3 expression was not noticeable in groups I and IV. It was determined by the measurements of the serum testosterone level that acrylamide administration significantly reduced the serum testosterone level.

It was observed that acrylamide, which had been exposed to in the prepubertal period, caused severe damages to the testicle on both structural and physiologic terms. This damage is at a high level which might cause infertility risk in children in the development period with habitual “fast food” consumption. Moreover there was a positive correlation between testicular damage and galectin-3 immunoreactivity. ATRA was found to provide a significant protection against the damage caused by acrylamide.

**Keywords:** Acrylamide, All Trans Retinoic Acid, Galectin-3, Testis, immunohistochemistry.



## 3. GİRİŞ

### 3.1. Testis Histolojisi

Erkek üreme sistemi; haploid erkek gameti olan spermatozoanın üretimi, beslenmesi ve geçici olarak depolanmasından ayrıca androjenlerin sentez ve sekresyonundan sorumludur. Erkek üreme sistemi; testisler, epididimis, vas deferens, ejakülatör kanal ve erkek üretrasının bir segmentinden ayrıca seminal vezikül, prostat ve bulboüretal bezler ve penisten oluşur (1).

#### 3.1.1. Testisler

On beş gram ağırlığında oval bir bez olan testis, canlıda beyaz görünüm sergilemesi nedeniyle tunika albuginea adı verilen sıkı fibroelastik bağ dokusundan oluşmakta olup kalın bir kapsülle sarılmış durumdadır (2). Testisler epididimis ve vas deferensin başlangıç parçası skrotal kese içerisinde yer alır.

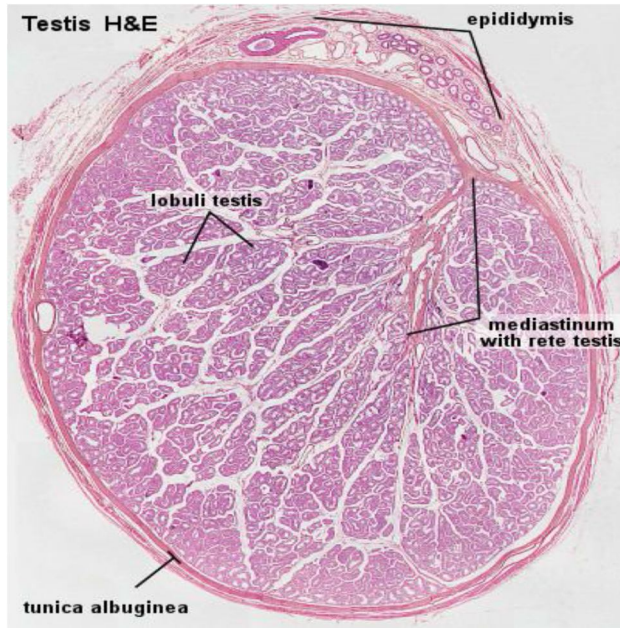
Testisler abdominal kavitenin dışında skrotum içerisinde lokalize olan bir çift organdır. Bu lokalizasyon testislere vücut ısısının 2-3 °C altında bir ortam sağlar. Bu ortam spermatogenezisin normal seyri için oldukça önemlidir. Testislerin posterior yüzü epididimisle birliktedir. Her iki testis ve epididimis spermatik kord aracılığıyla skrotal keseye asılıdır. Spermatik kord, vas deferens, spermatik arter, venöz ve lenfatik pleksusları içermektedir.

Testisler tunika albugenia ile çevrilidir. Tunika albugenia rete testisin lokalize olduğu bölümde kalınlaşarak mediastinumu oluşturur. Mediastinumdan testiküler doku içerisine fibroz septalar uzanarak organı 250-300 lobule ayırır. Her bir lobul 1-4 sayıda seminifer tübül içerir. Her bir seminifer tübül yaklaşık olarak 150 µm çapında ve 80 cm uzunluğundadır. Seminifer tübül sonları rete testise

açılır. Rete testis, seminifer epitelin ürünleri olan testiküler sperm salgı proteinleri ve iyonların toplandığı kanallar ağıdır.

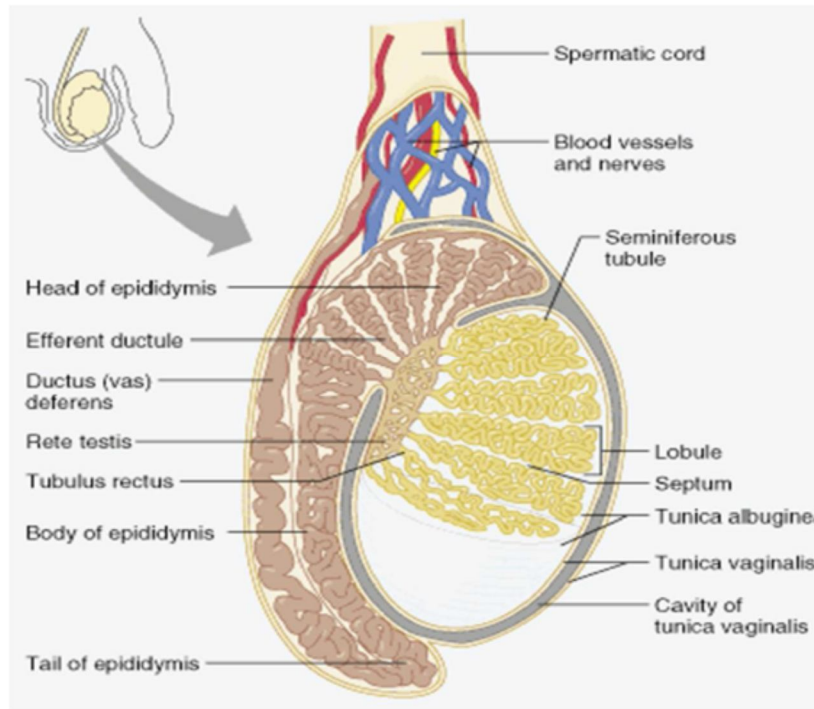
Seminifer tübül özelleşmiş ve iki farklı hücre popülasyonu içeren seminifer epitelyumla kaplıdır. Seminifer epitelyumu oluşturan hücreler; somatik Sertoli hücreleri ve spermatogonia, spermatositler ve spermatidlerin oluşturduğu spermatogenik seriye ait olan hücrelerdir.

Seminifer epitelyum bir bazal membranla ve yapısında kollojen lifler, fibroblastlar ve kontraktıl miyoid hücreleri içeren bir tabaka ile çevrilidir. Miyoid hücreler nonmotil spermleri yaptıkları ritmik kontraktıl aktivite ile rete testise iletir. Spermler ileri motalitesini epididimal kanaldan geçerken elde ederler. Seminifer tübüllerin arasında bulunan intertisyel bölge bol miktarda kan damarı ve lenfatik kanallar ile androjen üreten Leydig hücre toplulukları içerir (1).



Şekil 1. Testisin Hematoksilen- Eozin boyama ile mikroskopik görüntüsü (3)

Testisler, prenatal dönemde karın boşluğunun arka duvarında retroperitoneal olarak gelişir. Fetüsün gelişmesi esnasında göç edip skrotum içinde spermatik kordonların uçlarında asılı bir şekilde bulunurlar. Skrotuma doğru gerçekleştirdikleri bu göç sebebiyle her bir testis kendisiyle birlikte peritonu, tunika vajinalis adı verilen seröz bir kese şeklinde skrotum içine doğru sürükler. Tunika vajinalis dışta pariyetal, içte ise viseral bir tabakadan oluşmakta olup testisin ön ve yan kısımlarında tunika albugineayı sarar (4).

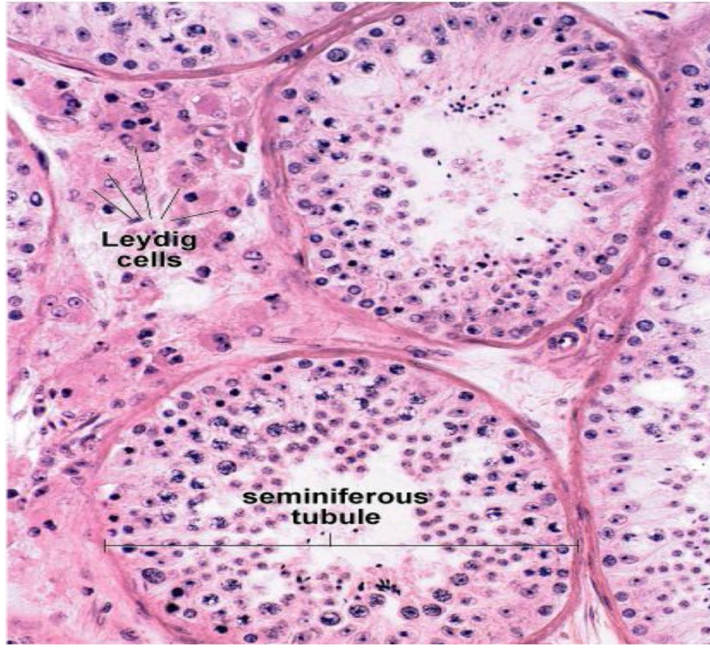


Şekil 2. Testiste genital kanalların gösterimi (3)

### 3.1.2. Seminifer Tübüller

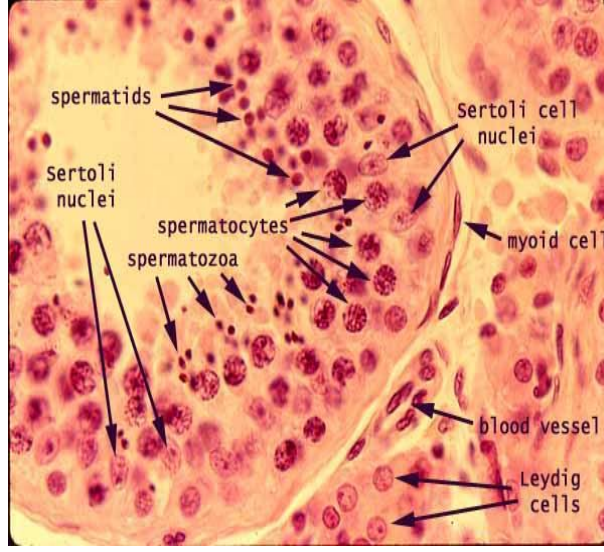
Spermatogenik seri hücreleri, seminifer tübüllerde üretilir ve erişkinlerdeki yapım hızı günde  $2 \times 10^8$ 'dir. Her testiste yaklaşık 250-1000 seminifer tübül vardır. Her seminifer tübül karmaşık yapıda çok katlı bir epitel ile döşeli olup, yaklaşık 150-250  $\mu\text{m}$  çapında ve 30-70 cm boyundadır. Bir testisteki tübüllerin toplam uzunluğu yaklaşık olarak 250 metredir. Tübüller, kıvrımlı olup uçlarına doğru

lümeni daralarak düz tübüller ya da tubuli rekti olarak adlandırılan kısa segmentler halinde devam eden kangallar şeklinde uzanan yapılardır. Bu düz tübüller, seminifer tübülleri rete testis olarak adlandırılan epitel ile döşeli kanalların meydana getirdiği bir labirente bağlar. Rete testis kanalları anastomoz yaparak, yaklaşık 10-20 adet duktuli efferentes ile epididimisin baş kısmına bağlanmaktadır (4).



**Şekil 3.** Testiste Seminifer tübülün ve Leydig hücrelerinin mikroskopik görüntüsü (3)

Seminifer tübüller fibröz bir bağ dokusu kılıfı, belirgin bir bazal lamina ile karmaşık bir germinal ya da seminifer epitelden meydana gelmektedir. Seminifer tübüllü saran fibröz tunika propria birkaç fibroblast katmanından meydana gelmektedir. Bazal laminaya yapışık olan en içteki katman, düz kas özellikleri gösteren yassılaştırmış miyoid hücreler içerir. Seminifer tübüllerin arasındaki boşluğun çoğunluğunu interstisyel (Leydig) hücreleri doldurmaktadır (4).



Şekil 4. Seminifer tübülün mikroskopik yapısı (5)

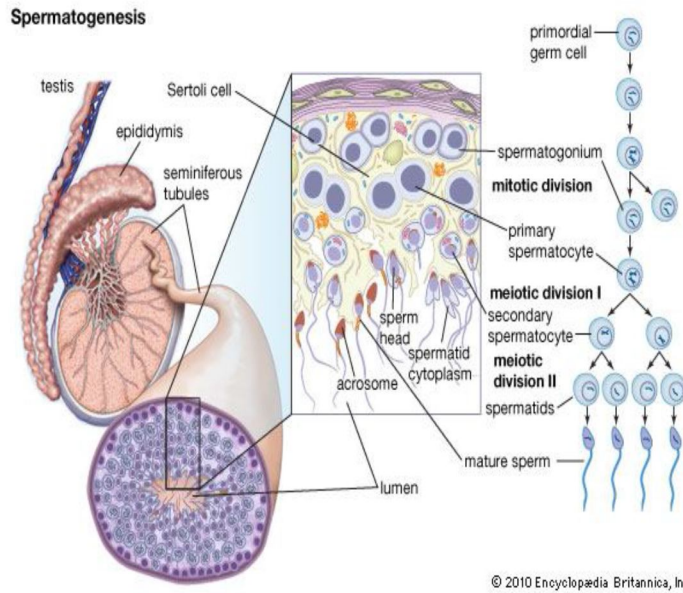
Seminifer epitelde iki tip hücre bulunur: Sertoli veya destek hücreleri ile spermatogenez serisinin hücreleri 4-8 tabaka halinde düzenlenmiştir; seminifer epitelinin fonksiyonları ise spermatozoonları üretmektir. Spermatozoon üretimi spermatogenez olarak adlandırılmakta olup bu süreç, mitoz ve mayoz hücre bölünmeleri içerir. Sonunda hücreler spermatozoitlere farklılaşır; bu aşama spermiyogenez olarak adlandırılır.

### 3.1.3. Spermatojeniz

Spermatojeniz, spermatozoon üretim süreci olup bu süreçte ilkel bir üreme hücresi olan spermatogonyum ile başlar. Spermatogonyum yaklaşık 12 µm çapında, bazal laminanın hemen üstünde bulunan küçük bir hücredir. Cinsel olgunluk çağında spermatogonyum hücreleri mitoz bölünmeyle çoğalmaya başlar ve yeni hücreler meydana gelir. Yeni oluşan hücreler iki yoldan birini takip edebilir: A tipi spermatogonyumlar olarak da adlandırılan kök hücreler olarak bölünmeyi sürdürebilir ya da sürmekte olan mitoz döngüleri boyunca farklılaşarak



B tipi spermatogonyumları meydana getirir. B tipi spermatogonyumlar primer spermatozitelere farklılaşan öncül hücreler olup primer spermatozitelere 46 kromozom ve 4N DNA ihtiva eder. Oluşumlarından hemen sonra bu hücreler birinci mayoz bölünmenin profazına girer ve bu bölünmenin profaz aşaması yaklaşık 22 gün sürdüğünden, kesitlerde görülen spermatozitelere çoğu bu aşamada görülebilecektir. Primer spermatozitelere spermatojen serinin en büyük hücreleri olup çekirdeklerinde, sarmalanma sürecinin çeşitli aşamalarındaki kromozomların bulunması ile tanınırlar (4).



**Şekil 5.** Spermatogenez aşamalarının gösterimi (3)

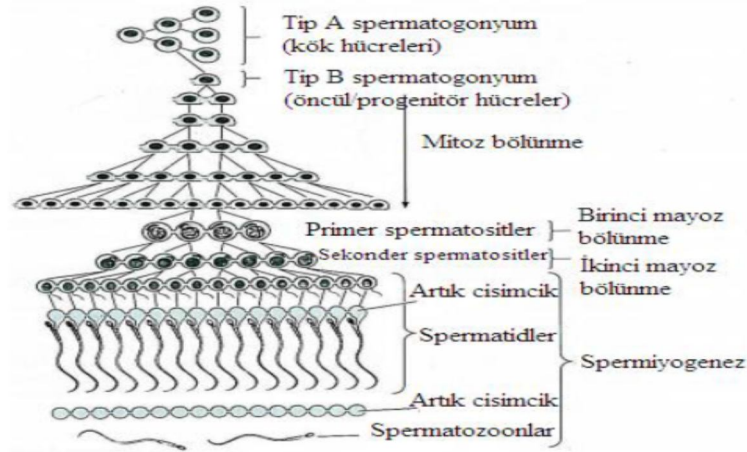
Birinci mayoz bölünmeden hemen sonra sekonder spermatozitelere olarak adlandırılan ve yalnızca 23 kromozom içeren daha küçük hücreler meydana gelir. Kromozomların sayısındaki bu azalmaya her hücredeki DNA miktarının eksilmesi eşlik eder. Testis kesitlerinde sekonder spermatozitelere izlenmesi zordur, çünkü bunlar interfazda çok kısa süre kalıp çabucak ikinci mayoz bölünmeye giren kısa ömürlü hücrelerdir. Sekonder spermatozitelere bölünmesi 23 kromozom içeren iki hücrenin, spermatidlerin meydana gelmesiyle sonuçlanır. Spermatozitelere birinci

ve ikinci mayoz bölünmeler arasındaki S fazı görülmediği için, ikinci bölünmeden sonra her hücredeki DNA miktarı yarıya iner ve haploid sayıda kromozom içeren hücreler meydana gelir. Döllenmeyle bunlar normal diploid sayıya geri dönerler.

### 3.1.4. Spermiyogenez

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

Spermatidler, küçük boyutları (7-8  $\mu\text{m}$  çapta), yoğunlaşmış kromatin bölgeleri bulunan nükleusları ile ayırt edilebilirler. Seminifer tübüllerde lümen yakınında yerleşmişlerdir. Spermiyogenez, akrozom oluşumunu, çekirdek yoğunlaşmasını ve uzamasını, kamçı gelişmesini ve sitoplazmanın büyük bir bölümünün kaybolmasını içeren karmaşık bir süreçtir. Sonuçta, daha sonra seminifer tübül lümenine bırakılan olgun spermatozoon oluşur (4).



Şekil 6. Germ hücrelerinin klonal özelliğini gösteren çizim (4)

Yalnızca başlangıçtaki spermatogonyumlar bölünür ve birbirinden ayrı yavru hücreler üretir. Farklılaşmaya başlayan hücreler daha sonraki bölünme aşamalarında hücre içi stoplazmik köprüleri aracılığıyla birbirleriyle bağlantılı kalır. Ancak alt kısım gövdelerinden ayrıldıktan sonra, spermatozoonlar ayrı hücreler olarak değerlendirilebilir (4). Spermatidin olgun sperme farklılaşma süreci dört faz içerir. Bu fazlar, spermatidlerin özel bağlantılarla Sertoli hücre membranına fiziksel olarak bağlandığında ortaya çıkarlar (6).

### **3.1.5. Golgi Fazı**

Spermatidin sitoplazması, çekirdeğin yakınında yer alan belirgin bir golgi kompleksi, mitokondriyumlar, bir çift sentriyol, serbest ribozomlar ile düz endoplazma retikulumu tübüllerini ihtiva eder. Proakrozomal granüller olarak adlandırılan PAS-pozitif küçük granüller golgi kompleksinde birikir ve daha sonra birleşerek zarla sınırlı bir akrozom vezikülünün içinde yer alan tek bir akrozom granülü meydana getirirler. Sentriyoller göç ederek, meydana gelen akrozomun karşı tarafında hücre yüzeyine yakın bir konuma doğru yerleşirler. Kamçı aksonemi oluşmaya başlar, sentrioller tekrardan çekirdeğe doğru göç ederken hareket ettikçe aksonem bileşenleri etrafına sarılır (4).

### **3.1.6. Şapka Fazı**

Bu faz, akrozomal vezikülün yerleştiği çekirdek yüzeyinde, yarıya kadar yayılmasıyla karakterize edilir. Akrozomal şapkanın altında yer alan çekirdek kılıfı porlarını kaybederek kalınlaşır ve çekirdek içeriği yoğunlaşır (6).



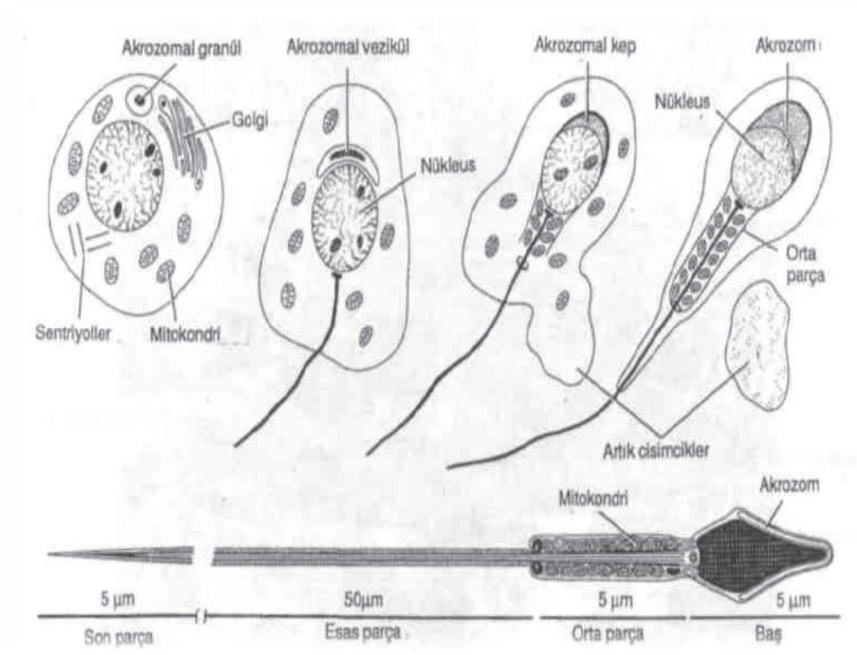
### 3.1.7. Akrozomal Evre

Akrozom vezikülü ve granülü, yoğunlaşan çekirdeğin ön yarısını kaplayacak şekilde dağılır ve bundan sonra akrozom adını alır. Akrozom, hiyalüronidaz, nöraminidaz, asit fosfataz ve etkisi tripsine benzeyen bir proteaz gibi bazı hidrolitik enzimler bulundurur. Akrozom bundan dolayı özelleşmiş bir lizozom gibi işlev görür. Bu enzimler oositleri çevreleyerek korona radyata hücrelerinin birbirinden ayırır ve zona pellusidayı sindirir. Spermatozoonlar bir oositle karşılaştığında akrozomun dış zarı birçok bölgede spermatozoonun plazma zarı ile kaynaşır akrozom enzimlerinin hücre dışında boşalmasını sağlar. Bu işlem akrozom reaksiyonu olarak adlandırılır ve döllenmenin ilk basamaklarından biri olmaktadır.

Spermiyogenezin bu evresinde, spermatid seminifer tübülün tabanına doğru yönelir ve aksonem lümenine doğru uzanır (4). Ayrıca, çekirdek uzayıp daha yoğun bir hale gelir. Aynı zamanda sentriyoellerden biri gelişerek kamçıyı (flagellum) meydana getirir. Mitokondriyumlarda kamçının proksimal kısmı tarafında toplanarak orta parça adı verilen kalınlaşmış bölgeyi meydana getirir. Bu bölge spermatozoon hareketlerinin enerji kaynağını oluşturur (6, 4). Mitokondriyumların bu şekilde yerleşmesi, bu organellerin hücre hareketiyle ilgili ve enerji tüketimi yüksek olan bölgelerde yoğunlaşmasının başka bir kanıtını oluşturur. Kamçı hareketi; mikrotübüller, ATP ve dinein ATPaz aktivitesine sahip bir proteinin etkileşmesi sonucunda meydana gelir.

### 3.1.8. Matürasyon (Olgunlaşma) Evresi

Maturasyon fazı, spermatidin stoplazmasının dışarıya atılmasıyla ile karakterize edilir. Geriye kalan artık sitoplazma Sertoli hücreleri tarafından fagosite edilir ve serbest kalan spermatozoonlar seminifer tübülün lümenine bırakılırlar (4,6).



**Şekil 7.** Spermiyogenezis süresince spermatidlerde ortaya çıkan başlıca değişiklikler (4)

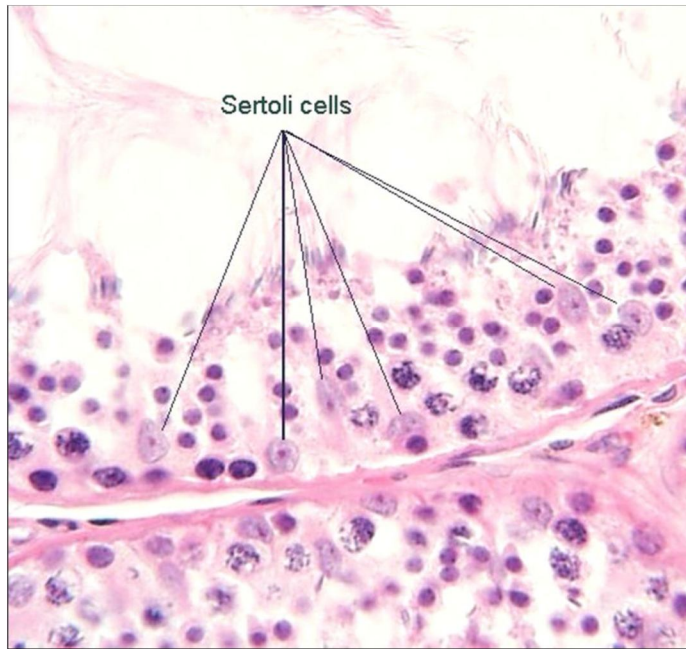
Spermatozoonun esas yapısal özelliği olan baş kısmı, başlıca yoğunlaşmış nükleer kromatinden oluşur. Nükleus hacminin azalması, spermin daha çok hareket kazanmasını sağlar ve yumurtaya girerken genomun zarar görmesini engeller. Spermatozoonun geri kalan bölümü, yapısal olarak hareketli olmasını sağlayacak şekilde düzenlenmiştir.

### 3.1.9. Sertoli Hücreleri

Sertoli hücreleri; spermatozoonların desteklenmesinde ve olgunlaşmasında rol oynayan spermatogenez serisindeki hücreleri saran uzun, piramidal hücrelerdir. Sertoli hücreleri, puberteye kadar seminifer epitelin baskın hücreleridir. Puberteden sonra seminifer tübül epitelindeki hücrelerin yaklaşık %10'unu Sertoli hücreleri oluşturur. Daha ileri ki yaşlarda erkeklerde spermatogenik hücre popülasyonu azaldığı zaman, Sertoli hücreleri tekrardan seminifer epitelin ana elemanı haline geçer (2, 4, 6). Sertoli hücrelerinin tabanları bazal laminaya bağlanır, tepe kısımları ise seminifer tübülün lümenine uzanır. Işık mikroskopunda, spermatogenik seri hücrelerini çevreleyen çok sayıda yan uzantılarından dolayı, Sertoli hücrelerinin sınırları iyi belirlenemez. Elektron mikroskobu ile yapılan çalışmalarda, bu hücrelerin çok sayıda düz endoplazma retikulumu, az granüllü endoplazma retikulumu iyi gelişmiş golgi kompleksi ve çok sayıda mitokondri ile lizozomlar içerdiği bilinmektedir. Genellikle üçgen biçiminde olan uzamış çekirdeğinde çok sayıda girinti, belirgin çekirdekçik ve az miktarda heterokromatin vardır.

Yan yana bulunan Sertoli hücreleri, hücrenin alt yan yüzlerinde (bazolateral) engelleyici sıkı bağlantılarla birbirine tutularak Kan-testis bariyerini meydana getirirler. Bu bariyer spermatogonyumlarla primer spermatositleri daha tepedeki sekonder spermatositler ve spermatidlerden ayırır (2, 4). Spermatogonyumlar bu bariyerin altında yer alıp bazal bölmeye dağılmıştır. Spermatogenez esnasında, spermatogonyumların bölünmesi sonucunda oluşan bazı hücreler bağlantı noktalarından bir şekilde geçerek, bariyerin üzerinde yer alan adluminal bölmeye ulaşırlar. Spermatositler ve spermatidler, bariyerin üzerine Sertoli hücrelerinin yan

ve üst kenarlarındaki derin girintilerde bulunmaktadır. Spermatidlerin kamçı kuyrukları geliştikçe, bunlar Sertoli hücrelerinin üst uçlarından çıkan saçaklar halinde görülürler (4). Sertoli hücrelerinin yaygın hücre iskeleti ağı, spermatozoonların hareketinin sağlanmasına destek olur (2). Sertoli hücreleri ‘aralık bağlantıları’ (gap junction) adı verilen birleşmelerle de bağlanmış olup bu yolla hücrelerin iyonik ve kimyasal alışverişi gerçekleşir. Bu da, yukarıda sözü edilen seminifer epitel döngüsünün ilişkilerinde önemli bir durumdur (4).



**Şekil 8.** Seminifer tübülde Sertoli hücrelerinin mikroskopik görüntüsü (3)

Sertoli hücreleri; gelişmekte olan spermatozoonların desteklenmesi, korunması ve beslenmesinin düzenlenmesi gibi birkaç işlevi vardır. Yukarıda anlatıldığı gibi spermatogenez serisindeki hücreler birbirlerine sitoplazmik köprülerle bağlanmışlardır. Bu hücre ağı, Sertoli hücrelerinin yaygın sitoplazmik dallanmaları ile fiziksel olarak desteklenir. Spermatisitler, spermatidler ve spermatozoonlar Kan-testis bariyeri ile kan dolaşımından yalıtıldığı için bu

spermatogenik hücreler besin maddelerinin ve metabolitlerin alınıp verilmesinde Sertoli hücrelerine bağımlıdır. Sertoli hücrelerinin oluşturduğu bariyer gelişen sperm hücrelerini bağışksal saldırıdan da korur (4).

### **3.1.9.1. Fagositoz**

Spermiyogenez sırasında fazla spermatid sitoplazması artık cisimcikler şeklinde atılır. Bu sitoplazmik parçacıklar Sertoli hücrelerindeki lizozomlar tarafından fagosite edilir ve sindirilir (2, 4).

### **3.1.9.2. Salgılama**

Sertoli hücreleri sürekli olarak seminifer tübüllere genital kanallar yönünde akan ve spermilerin taşınması için gerekli olan bir sıvı salgılar. Sertoli hücreleri testosteron ve dihidrotestosterona yüksek oranda bağlanma afinitesine sahip androjen-bağlayıcı protein (ABP) sentezler. Androjen-bağlayıcı protein üretimi folikül uyarıcı hormon (FSH) ve testosteron kontrolü altında Sertoli hücreleri tarafından gerçekleştirilir ve seminifer tübül içinde spermatogenez için gerekli olan testosteronun yoğunlaştırılmasını sağlar ve bu sayede gelişim ve farklılaşma evrelerinde olan sperm hücrelerinin olgunlaşmaları sağlanır. Sertoli hücreleri testosteron östradiole çevirebilir. Bu hücreler aynı zamanda ön hipofiz bezinden FSH sentezini ve salgılamasını önleyen inhibin adı verilen bir heptid üretir (2, 4, 6).

### **3.1.9.3. Anti-Müllerian Hormon Üretimi**

Ayrıca Müller kanalını baskılayıcı hormon olarak da adlandırılan ve dönüştürücü büyüme faktörü, ailesine üye bir glikoprotein bu hormon embriyonik gelişme sırasında erkek fetusta müller kanallarının gerilemesini sağlar. Testosteron ise Wolf kanallarından köken alan yapıların gelişmesini sağlar.

### **3.1.9.4. Kan-Testis Bariyeri**

Seminifer tübüllerin iç kısmıyla kan arasında bir bariyerin olması, testis sıvısında kandan gelen çok az madde miktarının varlığına yol açar. Testis kapillerleri pencereci tipte olup büyük moleküllerin geçişine izin verir. Spermatozoidler kanda bulunan maddelere kolayca ulaşabilir. Ancak, Sertoli hücreleri arasında bulunan engelleyici bağlantılar, bir bariyer oluşturarak büyük moleküllerin Sertoli hücreleri arasındaki boşluğa taşınmasını önler. Böylece, spermatogenezin ileri ki aşamalarında germ hücreleri, kandaki zararlı maddelere karşı korunmuş olur (2, 4).

### **3.1.9.5. İnhibin B Üretimi**

İnhibin B hipofizdeki FSH üretimini engeller.

### **3.1.10. İnterstisyel Doku ve Leydig Hücresi**

Testisin interstisyel dokusu, androjen üretimi açısından oldukça önemlidir. Testislerde seminifer tübüller arasındaki boşluklar bağ dokusu, sinirler, pencereci kapillerler ve lenf damarları ile kaplıdır. Bağ dokusu farklı tipte hücreler içerir; bunlar arasındaki fibroblastlar, farklılaşmamış bağ dokusu hücreleri, mast hücreleri ve makrofajlar vardır. Ergenlikte başka bir tip hücre daha işlevsel olarak

belirgin hale gelmektedir. Bu yuvarlak ya da çokgen şekilli olup çekirdeği merkezde ve küçük lipid damlacıklarından zengin eozinofilik sitoplazması bulunan hücrelerdir. Bu hücreler, testisin interstisyel veya Leydig hücreleri olup steroid salgılayan hücre özelliklerini taşır. Leydig hücrelerindeki organellerin ve inklüzyonların çoğu testosteron sentezini ve salgısını düzenler ancak, en fazla DER bulunur (2,4). Bu hücreler, mitokondriyumlarında ve düz endoplazma retikulumlarında ki enzimler tarafından erkeklik hormonu olan testosteronu salgılar. Testosteron spermatogenez, embriyonal ve fetal yaşam arasındaki cinsiyet farklılaşması ve gonadotropin salgısının kontrolü açısından oldukça önemlidir. Testislerden az miktarda salgılanan ve testosteronun metaboliti olan dihidrotestosteron, bazı dokularda testosteronun enzimatik dönüştürümü ile salgılanır. Dihidrotestosteron, ergenlikte ve erişkinde vücuttaki çoğu organ ve dokuda etkili olur. Androjen üreten interstisyel hücreli tümörler erkeklerde erken puberteye yol açabilir.

İnterstisyel hücrelerin hem işlevsellikleri ve hem de sayıları normal uyarılara göre değişkenlik gösterir. İnsanda hamilelik esnasında plasentadan salgılanan gonadotropik hormon, anne kanından fetüse geçer ve androjenik hormonları salgılayan bol miktardaki fetal testis interstisyel hücrelerini harekete geçirir. Bu hormonlar, erkek genital organlarının embriyonik farklılaşması için gereklidir. Embriyonik interstisyel hücreler hamileliğin dördüncü ayna kadar tamamen farklılaşmış olarak kalırlar ve daha sonra testosteron sentezinde bir azalma ile beraber gerilerler. Daha sonra gebeliğin geri kalanı boyunca ve hipofizden salgılanan luteinizan hormon (LH) uyarısı altında testosteron sentezini tekrardan üretmeye başladıkları puberte öncesine kadar dinlenmede kalırlar (4).

## **3.2. Testis Embriyolojisi**

### **3.2.1. Genital Sistemin Gelişimi**

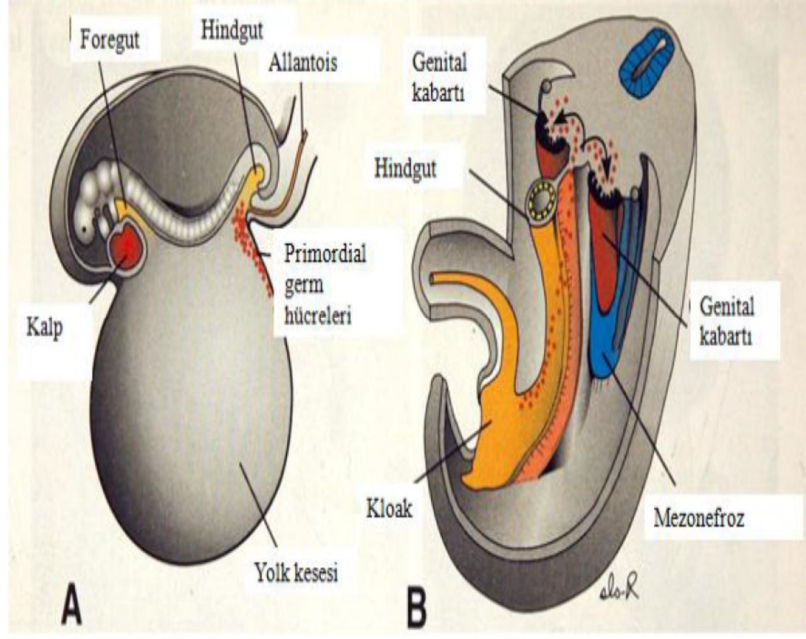
Embriyonun genetik ve kromozomal cinsiyeti, ovumu dölleyen sperm çeşidi (X ya da Y) ile, fertilizasyon sırasında belirleniyor olsa da, dişi ve erkek morfolojik karakteristikleri, 7. haftaya kadar tam olarak gelişmez. Genital sistem prenatal gelişimin erken safhasında her iki cinste de birbirine benzer, bundan dolayı genital sistemin gelişiminin başlangıç safhası seksüel gelişiminin farklılaşmamış safhası olarak isimlendirilir.

### **3.2.2. Gonadların Gelişimi**

Gonadlar (testisler ve overler) üç temel yapıdan köken alırlar.

- Posterior abdominal duvarı döşeyen mezotel (mezoderma epitel) yapı
- Hemen altındaki mezenşim doku (embriyonik bağ dokusu)
- Primordiyal germ hücreleri (Farklılaşmamış ilkel germ hücreleri) (7)





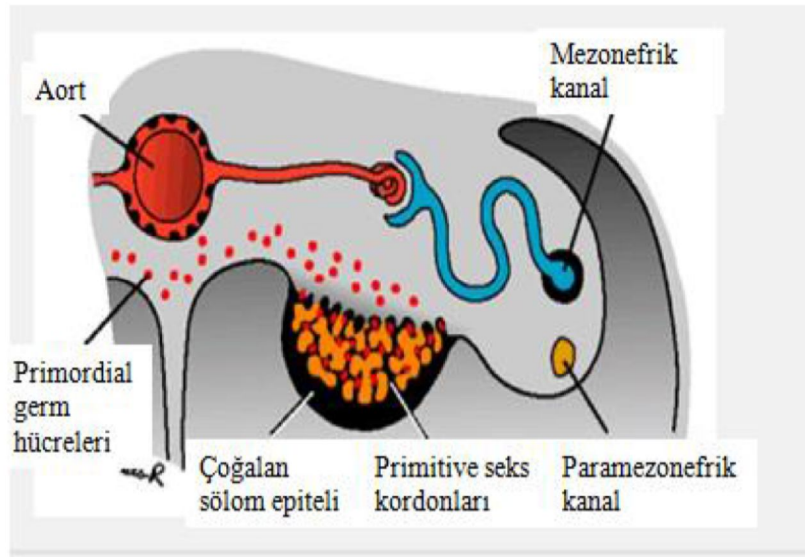
**Şekil 9.** Üç haftalık embriyoda, yolk kesesi duvarında, allantois bağlantısına yakın bir yerde primordial germ hücrelerini gösteren şema (A). Primordial germ hücrelerinin, son bağırsak ve dorsal mezenter boyunca, genital kabartıya doğru giden göç yolu (B) (8).

### 3.2.3. Farklanmamış Gonad

Gonadal gelişimin ilk safhaları 5. haftada ortaya çıkarak mezonefrozun medialinde, mezotelde bir kalınlaşma ortaya çıkar. Bu epitel ile altındaki mezenşimin proliferasyonu, mezonefrozun medialinde bir kabarıklık-gonadal kabartı oluşmaktadır. Parmak şeklindeki epitelyal kordonlar-gonadal kordonlar altındaki mezenşim içerisine doğru kısa bir sürede gelişirler. Farklanmamış gonad, dışta yer alan bir korteks ve içte yer alan bir medulla'dan meydana gelmektedir. Eğer embriyo XX seks kromozom kompleksine sahip ise, farklanmamış gonad'ın korteksi overe diferansiye olur ve medullası gelişmez. Ancak embriyo XY seks kromozom kompleksini içermekteyse, medulla testise farklanır, korteks bir takım kalıntıları dışında geriler, dejenere olur (9).

### 3.2.4. Primordiyal Germ Hücreleri

Oldukça geniş, sferikal seks hücreleri, 24 gün sonra umbilikal kese (yok yada vitellüs kesesi) duvarında, allantoisin başlangıç yerine yakın endodermal hücreler arasında meydana gelirler. Embriyonun katlanmaları sırasında, vitellüs kesesinin dorsal parçası embriyo içerisine dahil olarak primordiyal germ hücreleri arka bağırsağın dorsal mezenteri boyuna gonadal kabarıntılarına doğru göç ederler. 6. hafta boyunca primordiyal germ hücreleri altındaki mezenşim içerisine girererek burada gonadal kordonlara dahil olurlar. Primordiyal germ hücrelerinin göçü, *stella*, *fragilis* genleri ve BMP-4 tarafından düzenlenmektedir (7, 9).



**Şekil 10.** Altı haftalık embriyonun lumbal bölgeden geçen transvers kesitinde, primitif cinsiyet kordonlarıyla birlikte farklanmamış gonadın görünümü. Bazı primordiyal germ hücreleri primitif cinsiyet kordonlarına ait hücrelerle çevrelenmişti (8)

### 3.2.5. Cinsiyetin Belirlenmesi

Kromozomal ve genetik cinsiyet, X kromozomuna sahip ovum'un X veya Y kromozomu taşıyan sperm ile fertilizasyonuna bağlıdır. 7. haftadan önce gonadların görünümü her iki cinste de birbirine benzer dolayısıyla farklanmamış gonadlar olarak isimlendirilirler (7). Erkek fenotipinin gelişimi için bir Y kromozomu olması gerekir. Testis belirleyici faktör (TBF) için gerekli olan SRY geninin, Y kromozomunun kısa kolunda, cinsiyet belirleyici bölgesine yerleştiği belirlenmiştir. Y kromozomu ile düzenlenen, testis belirleyici faktör (TBF), testiküler farklılaşmayı ortaya çıkarmaktadır. Bu organizatör faktörün etkisi ile, gonadal kordonlar, seminiferöz kordonlara (seminifer öz tübül primordiyumlarına) farklanmaya başlarlar. Seminiferöz kordonların meydana gelişi, Sox9 ve Fgf9 genlerinin ekspresyonları ile sağlanır. Y kromozomunun yokluğu over gelişimiyle sonuçlanır (7, 9).

Dişi fenotipinin gelişmesi için iki X kromozomuna gerek vardır. Cinsiyetin belirlenmesinde X kromozomu üzerindeki pek çok gen ve bölgenin özel rolleri vardır. Sonuç olarak seks kromozom kompleksinin tipi, fertilizasyonla sağlanır, bu da farklanmamış gonadın hangi yönde gelişeceğini belirlemektedir. Mevcut gonadın tipi, daha sonra dış genitallerde ve genital kanallarda oluşan cinsiyet farklılaşmayı belirlemektedir. Fetal testisler tarafından üretilen testosteron, dihidrotestosteron-testosteron metabolitidir ve antimüllerian hormon (AMH) normal erkek cinsiyet gelişimini belirlemektedir. Dişide primer cinsiyet farklılaşma hormonlara bağlı değildir; overlerin yokluğunda bile, dişiliğin oluşması, hormonal bir etkinin söz konusu olmadığını göstermektedir (9).

### 3.2.6. Testislerin Gelişimi

Y kromozomunu kısa kolu üzerindeki testis belirleyici faktör (TBF) için SRY geni, farklanmamış gonadın testis olarak gelişiminde bir anahtar fonksiyonu görmektedir. Transkripsiyon faktörü SOX9'da testiküler farklılaşma için esastir. Testis belirleyici faktör (TBF) gonadal kordonları uyararak, onların farklanmamış gonadın medulla derilerine doğru uzanmasına neden olur, kordonlar burada dallanarak birbirleriyle anastomoz yaparlar ve böylece rete testis oluşur. Gonadal kordonların seminiferöz kordonlar kalın bir fibröz kapsül olup, tunika albuginea geliştikten hemen sonra, yüzey epiteli ile olan bağlantıları dejenere olur. Dens tunika albuginea'nın gelişimi, testiküler gelişimi için oldukça belirleyicidir (7, 9). Genişleyen testis aşamalı olarak kaybolan mezonefrozdaki ayrılarak kendi mezenterine olan mezorşiyum ile asılı hale geçerek seminiferöz kordonlar, seminiferöz tübüllere, tubili rekti ve rete testis'e farklanırlar. Seminiferöz tübülle, interstisyel hücreleri (Leydig hücreleri) oluşturan mezenşim ile ayrılmışlardır. 8. haftadan itibaren Leydig hücreleri, androjenik hormonları testosteron ve androstenedione salgılamaya başlar ve salgılanan bu hormonlar mezonefrik kanalların ve dış genitalerin maskülin olarak farklanmasını uyarırlar. Testosteron üretimini, insan koryonik gonadotropin (hCG) hormonu stimüle eder ve hCG hormonu miktarı, 8-12 haftalık dönemde en yüksek değerine ulaştırır. Testosterona ek olarak, fetal testisler, glikoprotein bir hormon olan antimüllerian hormon (AMH) veya müllerian inhibitör madde (MİM) adı verilen bir hormonu da üretmektedir. Antimüllerian hormon, Sertoli hücreleri (destek hücreleri) tarafından üretilip bu hormonun salınması puberteye kadar devam etmektedir. Daha sonra ise seviyesi gittikçe azalmaya başlar. Antimüllerian hormon, uterus

ve tuba uterinalara farklanarak, paramezonefrik (müllerian) kanalların gelişimini baskılar (7, 9).

Seminiferöz tübüller, puberteye kadar solid halde kalırlar (yani, lümeni yoktur) puberteden itibaren lümen gelişir. Seminiferöz tübül duvarında iki tip hücre vardır. Birinci tip Sertoli hücreleri olup, destek hücreleri olarak ta bilinir, testisin yüzey epitelinden gelişirler. İkinci tip ise spermatogonia'lar olup, primoriyal sperm hücreleri olarak da bilinir, primordiyal germ hücrelerinden farklanmaya başlarlar (7).

Fetal testiste, Sertoli hücreleri, seminifer tübüllerde çoğunluğu oluşturur. Daha sonra ki fetal gelişme sırasında, testis'in dış yüzeyindeki mezoteli oluşturur. Rete testis, efferent duktuli'leri (ductuli efferentes) oluşturan, 15-20 adet mezonefrik tübüller ile devam eder. Bu duktuliler, duktus epididimis'i oluşturan mezonefrik kanal ile bağlanırlar.

### **3.2.7. Genital Kanalların Gelişimi**

Gelişimin 5.-6. haftalarında, genital sistem farklanmamış safhadadır ve 2 çift genital kanal bulunmaktadır. Mezonefrik kanallar (Wolffian kanalı), erkek üreme sisteminin gelişiminde önemli bir yer tutarken, paramezonefrik kanallar (müllerian kanalı) dişi üreme sistemi gelişiminde rol oynamaktadır (9).

### **3.2.8. Erkek Genital Kanal ve Bezlerin Gelişimi**

Fetal testisler maskülinizasyon hormonları testosteron ve MİM üretirler. Sertoli hücreleri, MİM üretimine 6-7. haftada başlarlar. İntersisyel hücreler, testosteron salgılamaya 8. haftada başlarlar. Testosteron üretimi insan koryonik gonadotropik hormonu (hCG) tarafından stimüle edilir, testosteron, erkeklerde

mezonefrik kanallardan erkek genital kanalların oluşumunu uyarırken, MİM paramezonefrik kanalın epitelial mezenşimal dönüşümü ile kaybolmasını neden olur. 8. haftada, fetal testisler tarafından üretilen testosteronun etkisiyle her bir mezonefrik kanalın proksimal kısımları kıvrıntılı hal alır ve epididimis oluşur. Mezonefroz dejenere olduğunda, mezonefrik kanallardan bazıları kalıcıdır ve effrenet duktulileri oluştururlar. Bu duktuliler, duktus epididimis'e açılırlar. Epididimis distalinde, mezonefrik kanal, kalın bir düz kas tabakası kazanır ve duktus defferens oluşur (7, 9).

### **3.2.9. Seminal Bezler**

Mezonefrik kanalların, kaudal uçlarının lateralinden, dışa doğru seminal bezler gelişmeye başlar. Bezler, ejakülat içindeki sıvının büyük kısmını oluştururlar ve spermilerin beslenmesini sağlayan sekresyon yaparlar. Seminal bezlerin kanalı ile uretra arasında kalın mezonefrik kanalı bölümü, ejakülatuar kanal olarak gelişmektedir.

### **3.2.10. Prostat**

Uretranın prostatik parçasından oluşan, çok sayıda endodermal çıkıntı, etraftaki mezenşim içerisine doğru gelişir. Prostatın glandüler bez epiteli, bu endodermal hücrelerden gelişirken, epitel hücreleriyle ilişkili mezenşimden ise, organın stroması ve düz kasları oluşmaktadır (9).

### **3.2.11. Bulbouratral Bezler**

Bezelye şeklinde organlar olup, uretranın spongios parçasından, çift halde, dışa doğru büyüyen hücrelerden köken alırlar. Düz kas hücreleri ve stroma

bölgedeki mezenşimden kaynak olarak gelişirler. Bezlerin salgısı, semenle karışmaktadır.

### **3.2.12. Testislerin İnişi**

Testislerin inişi aşağıdaki faktörlere bağlıdır:

- Testislerin büyümesi ve mezonefrik böbreklerin atrofisi, testislerin posterior abdominal duvar boyunca, kaudal yönde hareketine izin vermektedir.
- MİM (müllerian inhibitör madde) ile uyarılan paramezonefrik kanalların atrofisi, testislerin transabdominal olup, derin inguinal halkalara doğru hareketini gerçekleştirmektedir.
- Proessus vajinalisin büyümesi, testislerin inguinal kanal boyunca skrotuma ilerlemelerinde rehberlik etmektedir (9).

Yirmi altıncı haftada, testisler posterior abdominal duvarlardan, retroperitoneal olarak (peritonun dışında) derin inguinal halkalara doğru inerler. Testislerin bu pozisyonel değişikliği, fetal pelvisin genişlemesi ile embriyonun boyutlarında uzamasıyla beraber olmaktadır. Testislerin transabdominal hareketleri, büyük oranda rölatif bir hareket olup, abdomenin kraniyal parçasının kaodal parçasından uzaklaşması ile bağlantılıdır. Testislerin inguinal kanallar boyunca skrotumun inmelerindeki sebepler, çok az oranda bilinmekle birlikte, bu durumun fötal testislerce üretilen androjenlerle kontrol edildiği alan kabul edilmektedir. Testislerin inişinde gubernakulumun rolü kesin değildir. Gubernakulumun başlangınçta proessus vaginalisin, inguinal kanalları oluşturmaları sırasında, proessus vajinalise anterior karın duvarı boyunca bir yol

oluşturur. Gubernakulun aynı zamanda, testisi skrotuma bağlar ve testisin skrotuma inişinde rehberlik yaptığı kabul edilir. Testislerin inguinal kanala geçişinde aynı zamanda, karın içi organların büyümesine bağlı olarak, intraabdominal basınç artışının da rol oynadığı düşünülmektedir (7).

Testislerin, inguinal kanallardan skrotuma inişi, yaklaşık olarak 26. haftada başlayarak 2-3 gün boyunca devam eder. Testisler, skrotuma girdikten hemen sonra, inguinal kanal spermatik kord etrafında gerilir. Terminde doğmuş yeni doğanların %97'den fazlasında, her iki testis de skrotum içerisinde bulunmaktadır. Doğumdan sonraki ilk üç ay içerisinde, inmemiş testisler skrotuma iner.

Testislerin, skrotuma iniş şekli, duktus deferensin niçin ureteri anteriordan çaprazladığını ve testiküler kan damarlarını seyrini açıklamaktadır. Testiküler damarlar, testisler posterior abdominal duvar seviyesindeyken oluşurlar. Organlar skrotuma inişi sırasında duktus deferens ve damarları da beraberinde taşırlar. Testis ve duktus deferens aşağı indiklerinde, karın duvarının fasiyal uzantıları ile sarılırlar (9). Transvers fasiyanın uzantısı, internal spermatik fasiya'yı oluşturur.

- İnternal oblik kas ve fasiya uzantıları, kremasterik kası ve fasiya'yı meydana getirir.
- Eksternal oblik aponevroz uzantıları, eksternal spermatik fasiya'yı oluşturur.

Skrotum içerisinde, testis, prosessus vajinalisin distal ucu içerisine doğru uzanır. Perinatal dönem sırasında, prosessus vajinalisin bağlayıcı sapı, genellikle oblitere olur ve testisle ilişkili, izole bir peritoneal kese olan, tunikavajinalis olarak kalır (9).



### **3.3. Testis Anatomisi**

#### **3.3.1. Erkek Genital Organları**

Erkek cinsinin üremedeki fonksiyonu, sperm hücrelerinin (spermatozoon) yapımı ve bunun dişi cinsinin genital yollarına bırakılmasıdır. Erkek genital sistemini oluşturan yapılar; testis (iki adet), epididimis (iki adet), ductus deferens (iki adet), aksesuar bezler, skrotom ve penistir. Skrotom ve penis dış genital yapıları oluştururken, diğerleri iç genital yapılar olarak kabul edilir (10).

#### **3.3.2. Testisler ve Skrotom**

Yetişkin bir erkekte çift olan testislerde hergün milyonlarca sperm hücresi üretilir. Her bir testis, küçük ve oval şeklinde bir organ olup ortalama 10-14 g ağırlığında 4-5 cm boyunda, yaklaşık 2,5 cm genişlik, 3 cm kalınlığındadır (10, 11).

Testisler skrotom adı verilen deri bir torba içerisinde bulunurlar. Skrotom duvarı da ter bezleri ve kan damarlarından zengindir. Bu yapılar ısı kaybını önleyerek, skrotom da ısının düşmesinin sağlarlar. Skrotom bir soğutma ünitesi gibi çalışarak, testisleri vücut ısısının 20<sup>0</sup>C altında tutarlar. Böylece vücut ısısında gelişemeyen sperm hücreleri korunmuş olur. Her testiste seminifer tübül adı verilen yaklaşık bin tane iplik gibi kıvrımlı tübül vardır. Bu tübüller sperm hücrelerini üreten fabrikalardır.

Testisler erkek embriyosunun karın boşluğunda (abdominal kavite) gelişirler. Doğumdan 2 ay önce skrotuma inerler. Skrotom testisleri içine alan bir deri torbasıdır. Testisler inerken inguinal kanal boyunca ilerler. İnguinal kanal (canalis inguinalis); skrotal ve abdominal boşlukları birleştiren bir kanaldır.

Testisler kendisine ait arter, ven, sinir ve iletim yollarını da birlikte yol boyunca götürürler. Bu yapılar kas ve bağ dokusundan oluşan tabakalarla çevrilidir (10).

Erkek üreme bezleri (testis), bir çift organ olup skrotumda asılı durumda bulunurlar ve bir bölme ile (septum scroti) ayrılmıştır. Sol testis sağa nispeten biraz daha aşağı durumdadır (12). Testis; facies medialis ve facies lateralis olmak üzere 2 yüze, extremitas superior ve extremitas inferior olmak üzere iki uca, iki ucu margo anterior ve margo posteriyor olmak üzere 2 kenara sahiptir .

Testislerin uzun eksenleri tam vertikal yönde bulunmaz. Üst ucu biraz önde ve dışta, alt ucu ise biraz arkada ve içte bulunur. Konveks ön kenarı biraz dışa-aşağı doğru, daha düzce olan arka kenarı da biraz yukarı-içe doğru bakar. Buna göre uzun ekseni yukarıdan-aşağıya, dıştan-içe ve önden-arkaya doğru meyilli olarak bulunur.

Testis visseral periton ile kaplı olup ön kenarı, iki yüzü ve uçları düz ve konveks yapıdadır. Arka kenarı ise sadece lateral kısmı peritonla örtülüdür. Epididymis de Peritonsuz olan medial bölümüne tutunur ve buradan da damar-sinirleri ve kanalları geçmektedir (11).

### **3.3.3. Testisin Yapısı**

Testis 3 örtü ile sarılmış testis parenşimi (parenchyma testis)'nden yapıldır.

Örtüler dıştan içe doğru

- Lamina visceralis (epiorchium)
- Tunica albuginea
- Tunica vasculosa olmak üzere 3 tabakadan oluşur.

Lamina Visceralis, testis'in inişi esnasında önüne katarak sürüklediği parietal peritondan oluşan saccus vaginalisin vissearal yaprağıdır. Epiorchiumun altında beyaz, kalın bir fibröz örtü olan tunica albuginea yer alır. Tunica albuginea, testisin arka kenarından testis dokusu içinde mediastinum testis (Corpus Higmori) olarak adlandırılan vertikal bir yarım bölme gönderir. Daha sonra mediastinum testisin ön ve yan bölümlerinden çıkarak, tunica albuginea'nın iç yüzüne uzanan birçok fibröz bölme (septula testis), testisi piramidal şekilli 250-300 lobcuğa (lobuli testis) ayırır. Tunika albuginea'nın altındaki testis paranzimine temas eden örtüye tunica vasculosa denir. Bu örtü kan damarları ve gevşek bağ dokusundan yapılı olup, tunica albuginea'nın iç yüzü ile septula testisleri sarar (13).

Testis parenşimi herbir lobolus; testis içerisinde 1-4 adet bulunarak küçük borucuklar (tubuliseminiferi-seminifer kanalcık) şeklindeki bezden yapılardır. Tubuli seminiferi'ler arasında gevşek bağ dokusu mevcuttur. İnterstitium testis olarak adlandırılan bu gevşek bağ dokusu içerisinde de sarı pigment granülleri içeren endokrin hücreler (Leydig hücreleri) vardır.

Testistteki 250-300 lobcukta yaklaşık 600-1000 adet seminifer kanalcık bulunur. Bir seminifer kanalcığının 75 cm uzunlukta olduğu düşünülürse bir testis'teki kanal sisteminin 750 m uzunlukta olduğu ortaya çıkar. Tubuli seminiferi'lerin tubulus seminifer convolutus ve tubulus seminifer rectus olmak üzere iki bölüme ayrılır. Bazı lopçukların tubuli seminiferi contorti (convuliti)'leri lopçukların tepelerinde uzanırlar. Her bir testis'te 20-30 tane olan tubuli seminiferi rectiler de mediastinum testis'te birbirleriyle birleşerek rete testis (haller ağı)

oluştururlar. Rete testisten çıkan 10-20 adet ductuli efferentes testis caput epididymiste ductus epididymise bağlanır (13).

Seminifer kanalların duvarının bazal membranı üzerine oturmuş iki tip hücre bulunmaktadır: Destek hücreleri (Sertoli hücreleri), germinal hücreler (cellulae spermatogenicae). Germinal veya spermatogenik hücreler seminifer kanal lümeniyle bazal lamina arasını dolduracak şekilde 4-8 tabaka halinde dizilmişlerdir. Bu tabakalar kademeli bir şekilde spermatogenezin çeşitli aşamalarını temsil ederler. Spermatogenesis, hipofiz bezinin ön lobundan salgılanan gonadotropik hormonların uyarısı sonucu 13-14 yaşlarında ortaya çıkar. Spermatogenezin oluşması için testislerin skrotum içinde bulunması şarttır. Spermatogenezisin total süresi 65-70 gündür. Sertoli hücreleri spermatogenik hücreler arasında bulunan büyük hücreler olup tabakaları bazal laminaya otururken apikal uçları sıklıkla seminifer kanalın lümenine bakar.

### **3.3.4. Testis Damar ve Sinirleri**

Aorta testicularis, aorta renalis'in hemen altında olarak aorta abdominalis'ten orijin alır. Musculuspsosasmajor'un önünde olarak aşağı doğru ilerleyen aorta testicularis analis inguinalis profundus'tan geçerek funikulus spermaticus'a katılır. Margopostreior'dan testis dokusu içine giren aorta testicularis, mediastinum'da birçok dala ayrılır. Bu dallar septulatestis'leri izleyerek dağılırlar. Aorta testicularis'in aorta ductusdeferentis, arteria cremasterica ve aa.pudendaexternae'lerle zengin anastomozları vardır (13). Testis'in venüs kanını direne eden venler önce plexus pampiniformis'i oluştururlar. Bu plexustan çıkan iki ven daha sonra birleşerek tek bir

venaetesticularis oluştururlar. Vena testicularis sağda vena cava inferiora, solda venaerenalise dökülür. % 8 olguda sağ venaetesticularis te venaerenalis'e direne olur. Vena testicularis'in vena Scrotales posteriores, vena pudenda externae ve vena cremastericae ile anastomozları vardır.

Testis lenfası 4-8 damar halinde funiculus spermaticus içinde olarak n.l.paraaortici'lere ulaşır. Testis otonom sinirlerle innerve edilir. Sempatik ve parasempatik lifler plexus testicularis'i oluştururlar. Plexus testicularis'e ait sinirler arteria testicularis ve arteria ductus deferentisler etrafında olarak testis'e ulaşır. Sempatikleri medulla spinallis'in T10-v12 segmentlerinden, parasempatikleri n.vagustan orijin alır (13).

### **3.3.5. Epididim (Epididymis) ve Duktus deferens (Ductus deferens)**

Testislerin arka kenarında bulunan yaklaşık 6 m'lik bir kanal yumağıdır. Epididimisi oluşturan kanala ductus epididymis denir. Epididimisin üst kısmı daha kalındır ve aşağı doğru inildikçe inceler. Kalın üst bölümüne caput epididymis, orta bölümüne corpus epididymis ve alt bölümüne de cauda epididymis denir (11).

Testisler içinde tubulus adı verilen yapılar bulunur. Sperm hücreleri içte bu tübüllerde üretilerek epididim içindeki daha geniş tüplere nakledilirler. Testis ve epididim birlikte skrotum içinde yer alırlar. Spermin olgunlaşması ve depolanması epididim içinde olur. Depolanan spermler buradan daha düz boru olan duktus deferense boşaltılır.

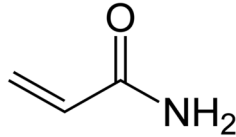
Duktus deferens, 25 cm uzunluğunda bir kanaldır. Skrotum içinde epididimin kuyruk kısmından (cauda epididymidis) başlayarak spermatik kordun

(funiculus spermaticus) bir parçası halinde yukarı yükselir. İnguinal kanaldan geçerek pelvis boşluğuna girer. Mesanenin (vesicauritaria) arka-alt yüzünde hafif genişleyerek seminal bezden (vesicula seminalis) gelen kanalla birleşir ve ejakulat kanalını (ductus ejaculatorius) oluşturur. İnguinal kanaldan pelvikkaviteye geçen duktus deferens, önce mesanenin yanlarında, sonra arka yüzünde aşağı doğru kıvrılır (10).

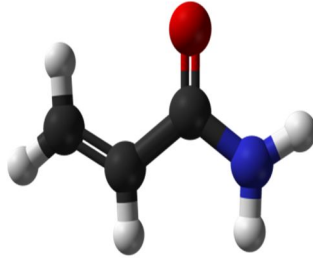
### 3.4. Akrilamid

#### 3.4.1. Akrilamid'in Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

Akrilamid ( 2-propenamid, etilen, karboksamid, akrilik amid, vinil amid ) molekül ağırlığı 71,09 g/mol olan bir polimerdir (14). Açık formülü  $C_3H_5NO$  ( $CH_2=CH-CONH_2$ ) olup renksiz, kokusuz, erime noktası  $84,5\text{ }^{\circ}C$  ve kaynama noktası  $125\text{ }^{\circ}C$  olan kristal yapılı bir kimyasaldır (15,16).



Şekil 11. Akrilamid'in iki boyutlu moleküler yapısı (17)



Şekil 12. Akrilamidin üç boyutlu moleküler yapısı (18)

Akrilamid (ACR) biyolojik olarak parçalanabilir, yüksek bir hareket kabiliyetine sahip olup su, etanol ve asetonda çözülebilen bir bileşiktir (19, 20).

### **3.4.2. Akrilamid'in Kullanım Alanları**

ACR; endüstriyel olarak üretilen  $\alpha,\beta$  doymamış reaktif bir molekül olup dünya çapında polyakrilamid sentezinde kullanılan bir maddedir. Polyakrilamid; böcek ilacı, gübre, petrol sondajı, mineral işlenmesi, kozmetik, kağıt üretiminde koyulaştırıcı madde olarak, atık su arıtma için çöktürücü, tekstil endüstrisinde, kemik çimentosu yapımında, toprak erozyonunu azaltmak için çamur yoğunlaştırmada, bitki yetiştiriciler için hidropanokal araç ve laboratuvarlarda proteinlerin elektroforezle ayrılması gibi birçok teknolojik uygulamalarda kullanılır. ACR'nin monomer olarak kullanım alanları ise; cross-linking agents, tutkal ve harç ile sınırlıdır (17, 21).

1970'ten bu yana poliakrilamid üretimi için endüstriyel malzeme olarak kullanılan ACR monomerleri mesleki zehirlenmelerin büyük nedenlerinden biridir (22). ACR aynı zamanda yapısal ve fonksiyonel proteinler için SH gruplarını değiştirme ve proteinin yapısını fonksiyonlarını ortaya çıkarmak için bilimsel araştırmalarda kullanılmıştır (16).

### **3.4.3. Akrilamidin Oluşum Mekanizması**

Yapılan araştırmalarda ısı işlem uygulanmamış gıdalarda ACR oluşumunun gerçekleşmediği, ısı işlem uygulamasına bağlı olarak ise proteince zengin gıdalarda dikkate alınabilir seviyede (5-50 ppb) ACR'nin oluştuğu, karbonhidratça zengin gıdalarda ise çok daha yüksek seviyelerde (150-4000 ppb) ACR oluştuğu tespit edilmiştir (15).

1964 yılından bu yana ACR amino ve sülfidril grupları arasında meydana gelen Michael tip nükleofilik ekleme reaksiyonlarının kinetiği, sentetiği ve mekaniği hakkında bir dizi çalışma yayınlanmıştır. ACR'nin amino grubunun reaksiyona girme derecesi diğer vinil bileşiklerine göre daha düşük olduğu görülmüştür. ACR aminoasit, peptid ve proteinler üzerinde biyolojik etki gösterebilir. Bu biyolojik etkilerinden biri nonprotein sülfidril gruplarının alkilasyonudur. ACR, yüksek ısı indüklemesiyle asparaginin serbest amino ucu ile indirgenmiş şekerlerin karbonil grubu arasında meydana gelen reaksiyon sonucu oluşur (16, 23).

Besinlerdeki ACR seviyesinin artması lipid, karbonhidrat veya serbest aminoasitlerin parçalanması sonucu meydana gelen akrolein veya akrilik asit, malik asit, laktik asit ve sitrik asit içeren temel bazı organik asitlerin dehidrasyon-dekarboksilasyonu sonucu ortaya çıkabileceği belirtilmiştir (24).

### **Akrilamid oluşum mekanizması 3 şekilde tanımlanır:**

- 1- Başlıca ACR oluşum mekanizması, yiyeceklerde asparagin öncüllüğünde Maillard esmerleşmesi denen reaksiyonla meydana gelmektedir. Asparagin termal dekarboksilasyon ve deaminasyon yoluyla ACR'ye dönüşür (25-28).
- 2- Akrilamid oluşumunda lipidlerin de önemli rol oynadığı bilinmektedir. Yüksek ısıdaki lipidlerden üç karbonlu akrilik asidin açığa çıkması yoluyla ACR oluşmaktadır (29,30). Ayrıca yüksek ısıya maruz kalmış monosakaritlerle asetaldehit ve formaldehit oluşumuna ilave olarak akrolein de oluşur ve sonuçta akrilamid şekillenir (31). Protein metabolizması organik asit (laktik asit, sitrik asit, malik asit)



dekarboksilasyonu yoluyla da akrolein ve akrilik asit ve nihayetinde ACR oluşmaktadır (32). Sonuçta lipidlerin transformasyonu, karbonhidratlar ve aminoasitlerin ayrışması yoluyla ortaya çıkan akrolein ya da akrilik asit reaksiyonu ile akrilamid açığa çıkmaktadır (33).

- 3- ACR'nin oluşumunu etkileyen faktörler arasında yüksek ısı, PH, mevcut bileşiklerin konsantrasyon ve reaksiyonları ve suyun içeriği yer almaktadır (34-36). ACR oluşumu 190 °C'nin üzerindeki ısılarda maksimum düzeye çıkmaktadır (37). ACR ürünleri yüksek PH'da ve su içeriğine bağlı olarak artmaktadır (38). Bahsedilen bu ekzojen faktörlere ilave olarak ACR oluşumunu yiyeceklerde bulunan aminoasitler (serbest asparajin, alanin, arginin, glutamin vs.) ve mono veya dissakkaritler (indirgenmiş glukoz ve fruktoz ve indirgenmemiş sükroz) gibi endojen faktörler de etkilemektedir (35, 36).

#### **3.4.3.1. Maillard Reaksiyonu**

Maillard Reaksiyonunu adını, 1912 yılında Fransız kimyager Louis Camille Maillard'dan almaktadır. Bu reaksiyona göre şekerler ve aminoasitler arasında meydana gelen enzimatik veya nonenzimatik tepkimeler sonucu ACR bileşiyi oluşur (25, 33). Sadece ısıl işlem sonucu meydana gelen bir reaksiyondur.

ACR'nin keşfinden önce Maillard reaksiyonu gıda endüstrisi için önemliydi. Çünkü pirazinler, piroller, turanlar, oksazoller, tiazoller ve tiyofenler heterosiklik bu tepkimelerle oluşuyordu ve bunlar kızarmış kavrulmuş gıdalara, aroma katıyordu. Gıdalara böylesi; aromasını, rengini veren reaksiyondan vazgeçmek gıda endüstrisi için kolay değildi (39, 40).

Maillard reaksiyonunun birden fazla basamağı vardır ve sadece bir reaksiyon olarak düşünülmemelidir. Örneğin; glikoz früktoz maltoz gibi şekerlerin indirgenmesi ile bir reaksiyon düşünülebilse de sükröz gibi şekerler reaksiyona girecekse enzimatik, termal veya asit katalizli reaksiyonu gibi birkaç basamak gerektirmektedir (41).

Ekmek, kurabiye, bira, kek, çikolata, patlamış mısır, patlamış pirinç, kahve gibi birçok besinlerde elde edilen lezzet Maillard reaksiyonu ve karemelizasyon ürünlerinin bir kombinasyonudur. Maillard reaksiyonu oda sıcaklığında bile ortaya çıkarken karemelizasyon 120-150<sup>0</sup>C'nin üzerinde ortaya çıkar. Maillard reaksiyonunun birinci adımı Amadori bileşiği olarak adlandırılan aminoasit ile şekerlerin indirgenmesidir. Büyük şeker molekülleri ile aminoasitler reaksiyona girerek lezzet verici bir karışım ortaya çıkarır. Böylece elde edilen reaksiyon ile besinlerin renk ve lezzeti değişir. Melanoidinler aynı zamanda yararlı antioksidan özelliklere sahiptir. Fakat Maillard reaksiyonu sonucu karbonhidratlar ve aminoasitler kaybolabilir. Böylece ürünün besin değeri azalabilir. Maillard ürünlerinin bazıları da zehirli veya kanserojendir. Bu ürünler böbreğe zararlı metaller ve mutajenler olabilir (25, 33).

#### **3.4.4. Akrilamidin Sağlık Üzerine Etkileri**

ACR yüksek sıcaklıkta ve bitkisel ham maddelerin pişirilmesi esnasında oluşan tarım ve gıda endüstrisi için zararlı bir kimyasaldır (42). İnsanlar ve hayvanlar tarafından beslenme, inhalasyon veya deri yoluyla alınabilir. ACR metabolize olması sonucunda biyolojik alkilasyonlara uğrayarak idrar yoluyla dışarı atılır (43).

ABD’de ACR ile ilgili bilgi elde edebilmek için 100.000 insanla bağlantı kurulmuş ve ACR’ ye maruz kalmanın çocuklarda, yetişkinlere göre daha büyük bir risk faktörü taşıdığı saptanmıştır (44-47). Besinlerde bulunan ACR’nin hamile kadınların % 10 ile % 50 arasında kan yoluyla fetüse geçtiği görülmüştür. Hatta anne sütünde bile ACR’ye rastlanılmıştır. Suda çözünebilen bir madde olan ACR’nin plasenta ve kan beyin bariyerini geçebildiği ifade edilmektedir.

ACR nörotoksisite, genotoksisite, üreme ve gelişme toksisitesine sebep olmasından dolayı dünya çapında endişe verici bir karsinogenik bileşiktir (23, 48, 49). Uluslararası kanser araştırmaları ajansı; ACR'yi büyük olasılıkla karsinogenik olarak kabul etmiş ve insanlar için kanserojen grup 2A olarak sınıflandırmıştır (26, 50). Deneysel hayvan araştırmalarında; ACR’nin beyin ve merkezi sinir sisteminde, tiroid bezinde, akciğer, böbrek, over, meme, prostat, mesane, mide, bağırsak sistemi kanserleri ve diğer endokrin bezleri üzerinde kanser insidansını arttırdığı görülmüştür (26, 51, 52).

Akrilamidin, karsinogenik etkisini genotoksik etki yaparak gösterdiği belirtilmiştir. ACR’nin genotoksik etkisi; mutasyonlara, kromozomal hasarlara, somatik ve gen hücrelerinde hasara, çekirdekçik ve kromozomal bozukluklara, kardeş kromatidler arasında değişime ve mitotik bozukluklara yol açmaktadır. ACR’nin aktif kimyasallarıyla GSH üzerine etki ederek hücrelerinin oksidatif stres altında kalınmasına neden olup DNA ve kromozomlar üzerinde kalıcı hasarlar oluşmasına sebebiyet verirdiği bildirilmektedir. Bu hasarların, hücrelerin çoğalma döngüsünü değiştirerek karsinomların oluşmasına neden olduğu rapor edilmiştir (53-60).

Bazı epidemiyolojik çalışmalarda ACR'nin DNA üzerinde dominant mutasyonlara yol açtığı belirtilerek, ACR'nin mutajen özelliğini desteklediği rapor edilmiştir (56, 61, 62). Ames testine göre spermatogenik kök hücreler üzerinde mutagenik etkileri olduğu düşünülüyor. Ayrıca spermatitler üzerinde dominant lathel mutasyonu indüklediği de saptanmıştır (63).

Laboratuvar hayvanları üzerinde yapılan çalışmalarda, akrilamidin nöron terminallerinde aksonopatiye yol açtığı ve kinezin bağımlı aksonal transportu ve nöron taşınmayı inhibe ettiği gözlenmiştir (64-66). Avrupa ülkelerinde patates cipsi, patates kızartması, kahve, yumuşak ekmek, bisküvi gibi gıdalarda ACR'nin varlığı tespit edilmiştir. Ekmekte bulunan ACR seviyeleri düşük olabilir. Fakat Avrupa ülkelerinde ekmek çok tüketildiği için zararlı olabiliyor, özellikle insanların konsantrasyonu ve kavrama gücünü azalttığı belirtilmiştir (67).

Nörotoksik dozlarda uygulanan ACR'nin üreme sistemi üzerinde de toksik etki yaptığı çeşitli çalışmalarla belirtilmiştir. Akrilamidin makro büyüklükteki toksik etkileri; üreme potansiyelini azalttığı, fetüs rezorpsiyonlarını arttırdığı, düşük doğum ağırlığına sebep olduğu, erkeklerde anormal sperm üretimine ve sperm sayısının düşüklüğüne, testiküler hasara, meme adenomlarına, skrotal mezoteliyomaya, fertiliteye ve hamileliğe zarar verdiği, anormal sperm yapımına sebep olduğu ve sperm üretimini azalttığı şeklinde rapor edilmiştir (68-71).

ACR'nin yol açtığı bu reproduktif hasarların moleküler mekanizması, sperm nükleusunda ve sperm kuyruğunda bulunan sülfidril grupların alkilasyonu şeklinde olduğu belirtilmiştir (72).

### **3.4.5. Besinlerdeki Akrilamid Oluşumunu Etkileyen Faktörler ve Akrilamid'i Azaltma Yolları**

Birçok araştırma da ACR'nin oluşturduğu biyolojik etkiler rapor edilmiştir ve bunu takiben çalışmalar besinlerdeki ACR düzeylerini azaltmaya yönelmiştir. ACR nin zararlı etkilerini gören gıda endüstrisi, gıdalardaki asparagin düzeylerini azaltmak için uygulanan sıcaklık, düşük PH ile birlikte sitrik asit müdehalesi, antioksidan ekleme, gıda matriksi, nem, gıdanın bulunduğu ortam koşulları (depolama sıcaklığı ve gübre kullanımı) ile işlem süresi gibi çeşitli metodlar öne sürmüştür. Bunun yanısıra yağda kızartılan gıdalarda ACR oluşumunda kullanılan yağ çeşidinin de etkisinin olduğu gösterilmiştir (73). Gıdaların pişirilmesinden önce gıdalara asparaginaz enzimi uygulamalarının başarılı sonuçlar verildiği görülmüş ancak, bu metodların uygulanması gıda kalitesi açısından kimi zaman elverişli olmamaktadır (74-79).

Avrupa ülkeleri ve Japonya patates ve diğer gıda ürünlerindeki asparagin ve şeker seviyelerini genetik tekniklerle azaltıp, ACR oluşumunu azaltmaya çalışmışlardır (80-85). Yapılan birçok çalışma göstermiş ki gıdalarda oluşan ACR miktarı yüksek sıcaklıklarda (120°C ve üzeri) ortaya çıkar ve işlem süresi uzadıkça da bu miktar daha da artmaktadır. ACR miktarının en yüksek sıcaklık düzeyi ise 160-180°C arası olarak bildirilmiştir (86, 87). Yapılan bir çalışmada patatesleri düşük sıcaklıkta ve vakum altında kızartmanın ACR oluşum miktarını % 94 oranında azalttığı rapor edilmiştir (88).

Elmore ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada (89); patates, buğday ve pirinç frenkleri kullanarak hazırlanan keklerde 180°C'lik fırında çeşitli pişirme sürelerinde ortaya çıkan ACR düzeyleri incelenmiştir. Elde edilen sonuçlar; 10 ve

20 dakikalar arasında ACR oluşumunda hızlı bir artış, 20-35 dakikalar arasında maksimum değere ulaşmış ve daha sonra doğrusal bir azalma her üç üründe de benzer bir şekilde gözlenmiştir.

ACR'nin oluşumu için ideal pH ~8 olduğu yapılan çalışmalarda rapor edilmiştir (90). Ayrıca haşlama işlemi ile ürünün pH'sının düştüğü ve ACR oluşumunun azaldığı belirtilmiştir. Yapılan bir çalışmada asparagin ve glukoz içeren sistemde pH'nın 7'den 4'e düşürülmesiyle ACR oluşumunun % 99 oranında azaltıldığı belirtilmiştir. Yapılan başka bir çalışmada mısır ve patates cipsini kızartma veya fırında pişirmeden önce sitrik asit çözeltisine batırmanın ACR oluşumunu önemli derecede azalttığı öne sürülmüştür (91).

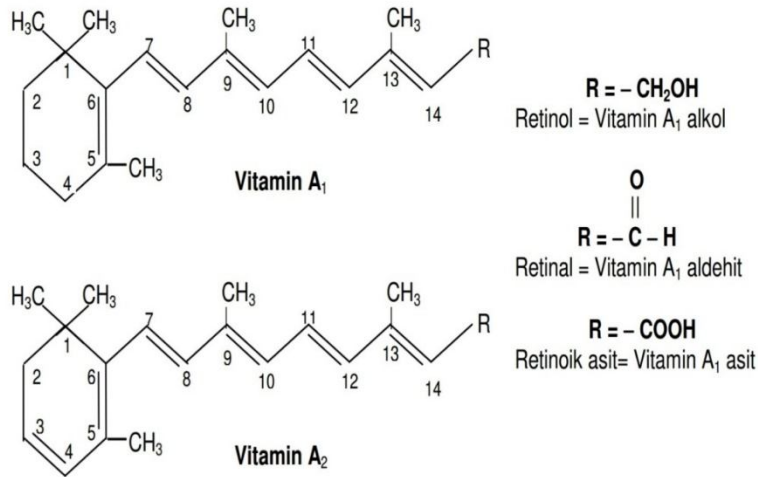
Yapılan çalışmalarda genel olarak yüksek nem içeren örneklerdeki ACR oluşumunun çok düşük miktarlarda olduğu belirtilmiştir (92). Elmore ve ark. yaptığı çalışmada (89); patates, buğday ve pirinç frenkleri kullanarak hazırlanan keklerde 180°C'de fırında eşit pişirme süresine karşılık keklerdeki % nem içeriğinin değişimine göre oluşan ACR oluşum düzeylerini incelemişlerdir. Sonuç olarak; % 5'in üzerinde nem oranına sahip olan keklerde ACR oluşum düzeyinin oldukça düşük olduğu, % 5'in altında nem oranına sahip keklerde ise ACR oluşum düzeyinin daha yüksek olduğu rapor edilmiştir. Başka bir çalışmada ortam koşulları incelenmiş, +20 °C depolanan patetes ile +2 °C'de depolanan patetes karşılaştırıldığında ACR seviyesinin daha yüksek olduğu görülmüştür (93, 94).

### **3.5. All Trans Retinoik Asid**

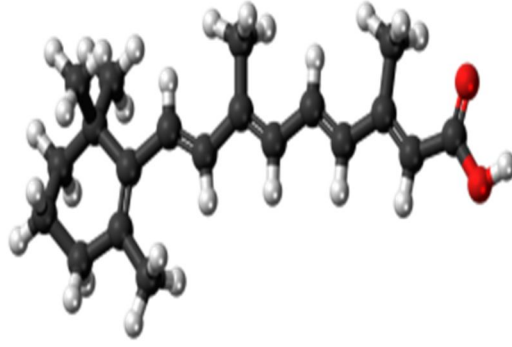
All-trans-retinoik-asit, (Vitamin A, Retinol, Antikseroftalmik Vitamin, Antienfeksiyöz Vitamin, Epitel koruyucu Vitamin) hayvansal kaynaklı besinlerde

retinoidler, bitkisel kaynaklı besinlerde karotenoidler olarak bulunur (95, 96). All-trans-retinoik-asit (ATRA),  $\beta$ -iyon halkasına sahip tüm karotin ve karatonoidlerden meydana gelebilir. Onun için karotin ve karatonoidlere provitamin A denir.  $\beta$ -iyonun halkasına sahip  $\beta$ -karotinden oksidatif parçalanma ile 2 molekül vitamin A,  $\alpha$ - ve  $\gamma$ -karotinden ise 1'er molekül vitamin A meydana gelir (95).

Retinolün karboksilik asit analogu retinoik asit olup, retinolün sentetik türevlerine **retinoidler** adı verilmektedir. Retinoidler belirli nükleer reseptörlere bağlanıp aktive olur ve biyolojik etkiler ortaya çıkarır (97). ATRA (A vitamini), karotenlerin parçalanması ile meydana gelir.  $\beta$ -karotinin izoprenoid zincirinin simetrik olarak tam orta yerinden parçalanması ile iki mol A vitamini aldehiti meydana gelir. A vitamini'nin aldehit'ine **Retinal** denir. Bu aldehit daha sonra alkol şekline indirgenir. Bu takdirde **Retinol** ismini alır. Bunun için **retinen redüktaz** denen NADH'a bağımlı enzimin katalitik etkisi gereklidir.



**Şekil 13.** Retinoik Asidin ( vitamin 1 ve vitamin 2) iki boyutlu moleküller yapısı (95)



**Şekil 14.** Retinoik asidin üç boyutlu moleküller yapısı (98)

All trans retinol hayvansal kaynaklardan elde edilip doymamış düz zincirli beta iyon halkası olan primer alkoldür. Retinol de dehidrojenaz enzimi ile retinale (retinaldehid all trans retinol) dönüşebilir. Retinal görme olaylarında aktif olup retinol dehidrojenaz enzime etkisi ile retinoik asite dönüşebilir ya da retinaldehid redüktaz enzimi yardımıyla retinol şeklinde depolanabilmektedir. Ancak retinoik asit vücutta retinal yada retinole dönüşmez (99,100). Retinol, retinal ve retinoik asitin kendilerine özgü biyolojik fonksiyonları vardır. Retinol bir hormon olarak işlev görürken retinal, görme pigmenti redopsin için gereklidir (101).

Asıl A vitamini diye adlandırılan A1 vitamindir. A2 vitamini, vitamin etkisi yönünden çok zayıftır. A2 vitamini, A1 vitamini'nin ancak % 40'ı kadar etki yapar. Kimyasal yapıları yukarıda açıklandığı gibi birbirine çok benzerdir, aralarındaki başlıca fark sadece  $\beta$ -iyon halkası içerisindeki çift bağın A1 vitamini'nde 5.- 6. karbon atomları arasında olmasına karşılık A2 vitamininde 3.- 4. karbon atomları arasında ikinci bir çift bağın bulunmasıdır.

Doğal olarak meydana gelen karatonoidlerde izoprenoid yan zincir genellikle **all trans** halindedir. Fakat A vitamininin yan zinciri değişik konfügurasyonlar gösterebilir. Bunlar **7-cis**, **9-cis**, **11-cis**, **13-cis** konfügurasyon



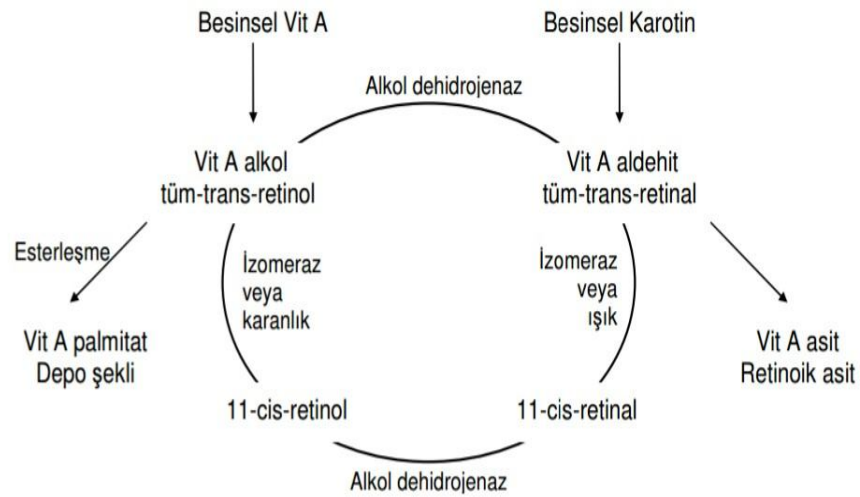
şekilleridir. Biyolojik olarak aktif olan yani görme işlemi ile ilgili olan A1 vitamini **11-cis-retinen**'dir.

### 3.5.1. All-Trans Retinoik Asidin Bulunuşu

Hayvansal organizmada karaciğer ve diğer dokularda retinol<sub>1</sub> biçiminde bulunur. Tatlı su balıklarında ise daha çok retinol<sub>2</sub> biçimindedir. Yani A<sub>2</sub> vitamininin alkollü halinde bulunur. Vitamin A karaciğerde, balık yağında, yumurta sarısından, yağı alınmış sütte, böbrekte ve tereyağında bol miktarda bulunur. Kaslarda ya yoktur ya da çok az vardır.

Provitamin A etkisine sahip karatinoidler bitkiler tarafından sentez edilir. Bitkisel kaynaklı gıda maddeleri vitamin A içermezler. Fakat çoğu bitkiler hayvansal organizmada vitamin A'ya çevrilebilir karotinleri sentez ederler. Karotinler, karaciğer ve bağırsak duvarlarında vitamin A'ya çevirirler.

#### Vitamin A Metabolizması : ↓



Şekil 15. Retinoik asidin metabolizması

### **3.5.2. All-Trans Retinoik Asidin Etki Biçimi**

Vitamin A veya karotin, safra asitlerinin varlığında onlarla suda eriyen kompleksler oluşturularak emilirler. Emildikten sonra karotin bağırsak mukoza hücrelerinde bir karotinaz enziminin etkisiyle kısmen vitamin A'ya çevrilir (95).

A vitaminin taşınmasında ve depolanmasında karaciğerin önemli bir rolü olup A vitaminin %50-80'i karaciğerde geri kalanı ise adipoz doku, akciğer, böbrek hücrelerinde depolanır (101-103).

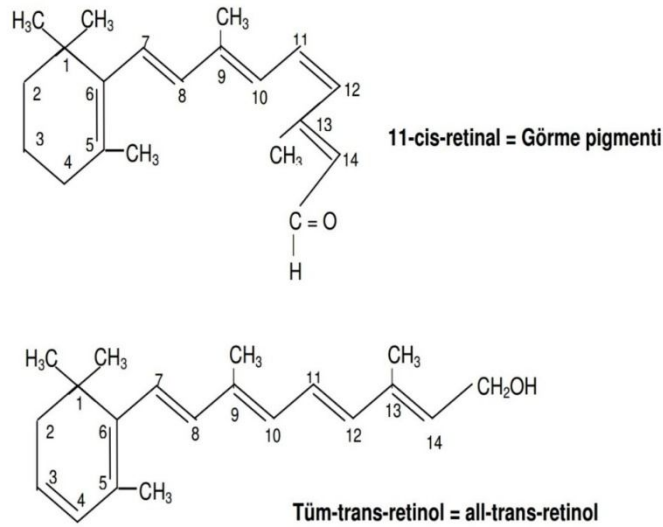
### **3.5.3. All-Trans Retinoik Asidin Fonksiyonları**

Retinol, retinal ve retinoik asidin kendilerine özgü biyolojik fonksiyonları vardır. A vitamini görme, bağışıklık, büyüme, gelişme, üreme ve farklılaşma için temel mikro besin kaynağıdır. A vitamini 18.-19. yüzyıldan beri bilinmekte olup eski Mısır kaynaklarında A vitamini eksikliğine bağlı olarak gece körlüğüne rastlanmaktadır. Retinol bir hormon olarak işlev görürken retinal, görme pigmenti redopsin için gereklidir (101, 104, 105). A vitamini'nin bugün için bilinen başlıca etkisi omurgalılarda görme siklusu denen biyokimyasal olayda oynadığı roldür. Görme olayı fotokimyasal bir olaydır. Vitamin A'nın temel etkisi gözün karanlığa adapte olmasında görülür. Gözün retinasında bulunan ve rod'lardan oluşan reseptör hücrelerin içerdikleri görme pigmentleri adı verilen ışığa duyarlı rodopsin bu fotokimyasal olayda başlıca rolü oynar.

Güvercinler gibi sadece gün ışığında görme olanağına sahip hayvanların retinalarında yalnızca kon hücreleri, yarasalar gibi alacakaranlıkta gören hayvanlarda ise rod hücreleri vardır. Buna karşılık insanlar gibi hem gün ışığında görebilen hem de karanlığa adapte olabilen hayvanların retinalarında her iki çeşit

hücre de bir arada mevcuttur. Rod'ların içerdikleri görme pigmentinin adı **rodopsin**'dir. Kon'ların içerdikleri görme pigmentinin adı da **iodopsin**'dir. Rodopsin bir protein ve karotenoid bileşiğidir. Protein kısmına opsin, karotenoid kısmı da 11-cis-retinal'den oluşur.

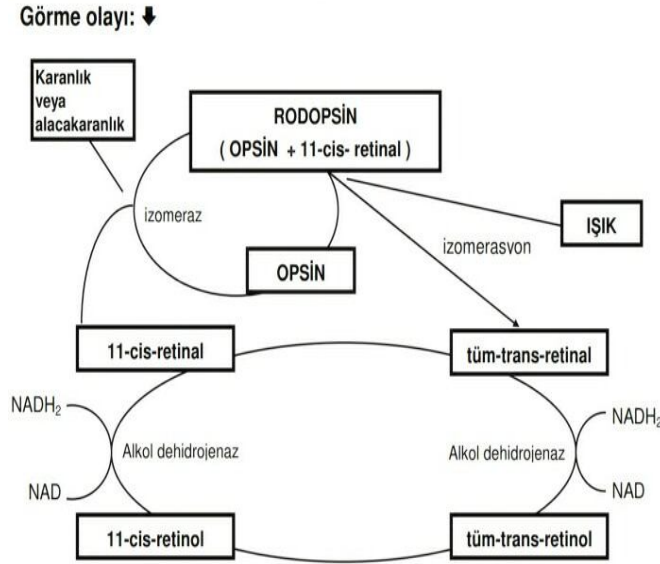
Görme olayı sırasında ışığın retina üzerine düşmesi ile rodopsin yapısında yer alan 11-cis-retinal izomerasyona uğrayarak 11-cis çift bağı trans şekline dönüşür, bunun sonucu olarak **all-trans-retinal** meydana gelir. Bundan sonra protein-karotenoid kompleksi dissosiyasyon olarak opsin ve tüm-trans-retinal birbirlerinden ayrılırlar.



**Şekil 16.** Görme olayı sırasında ışığın retina üzerine düşmesi ile rodopsin yapısında yer alan 11-cis-retinal izomerasyona uğrayarak 11-cis çift bağı trans şekline dönüşmesi

Meydana gelen all-trans-retinal, NADH ve alkol dehidrojenaz etkisi ile retinal dokuda tüm trans vitamin A1'e all trans retinol dönüşür. All-trans-retinal görme sinirinde uyarımı harekete geçiren maddedir. 11-cis-retinal rodopsin'in parçalanması ile açığa çıkan protein (opsin) ile karanlıkta birleşerek yeniden

rodopsinin oluşmasına ve böylece alacakaranlıkta görmeyi sağlarlar. Kon hücreleri yani iodopsin gün ışığında görmeyi ve renkli görmeyi sağlayan pigmentleri kapsarlar.



**Şekil 17.** 11-cis-retinal rodopsin'in parçalanması ile açığa çıkan protein (opsin) ile karanlıkta birleşerek yeniden rodopsinin oluşması (95)

Vitamin A' nın aktif metaboliti olan endojen retinoik asit ve metabolitleri hücre farklılaşması ve spermatogoniada mayoz başlangıcında etkin rol oynar (106). A vitamini türevleri ve karetenoidler önemli birer fizyolojik antioksidan olarak kabul edilir (107). A vitamini belirli germ transkripsiyonuna etki ederek hücre bölünmesine, farklılaşmasına ve fetal gelişimine yardımcı olur (108). Vitamin A ve türevleri hem normal embriyo gelişimi hem de erişkin organizmalarda farklılaşmanın sürdürülebilmesi için gereklidir (109-111). Yapılan bir çalışmada A vitamini eksikliğine bağlı olarak sıçan testislerinde spermatogonia hücrelerinde farklılaşma ve mayozun profaz safhasının başlamasında başarısız olduğu kaydedilmiştir (112, 113). Retinoik asit türevleri embriyonik gelişim süresince erişkin dönemde ve doğum sonrası periyotta

etkilidir. A vitamini büyüme, farklılaşma ve üremede temel olarak görevlidir. Aynı zamanda sinir sisteminin düzenlenmesinde, kafa-yüz farklılaşmasında, kol-bacak ve organların morfogenezinde önemli rol oynar. A vitamini doğum sonrası erkek gonadlarda ve embriyogenesis boyunca dişi gonadlarda mayozu başlatmak gibi önemli biyolojik olaylarda rol oynamıştır. Memelilerde retinoik asidin erkeklerde fertilitenin düzenlenmesinde rol oynadığı bilinmektedir (114-125).

A vitamini ve türevleri mRNA ve protein sentezlerinde önemli rol oynar. A vitamini eksikliği bulunan sıçan testisleriyle normal sıçan testisleri karşılaştırıldığında poliA ve mRNA sentezinin vitamin A eksikliği olan grupta azaldığı rapor edilmiştir (126). Retinoik asit önemli bir sinyal molekülü olup 500'den fazla genin düzenlenmesinde ve gen transkripsiyonunda rol oynar (127). Sertoli hücre farklılaşmasının son fazı erkek fertilizasyonu için gerekli olup bu faz; tiroid hormonları, retinoik asit ve androjenlerin başlıca etkileri altında başlar. A vitamini eksikliğinin yetişkinlerde spermatogenezin durmasına yol açtığı da bilinmektedir (128-132).

Retinol ve retinoik asit türevleri; lösemi, tiroid kanseri, kseroderma, pigmentozum gibi değişik hastalık gruplarında terapatik ajan olarak kullanılmışlardır (133). Aynı zamanda antioksidan özelliği olup bakterileri parçalayan lizozim enzimleri ihtiva eder (134).

#### **3.5.4. All-Trans Retinoik Asidin Yetersizliği**

Vitamin A yetersizliğinde, korneanın keratinizasyonu, gece körlüğü, konvulziyonlar, solunum bozuklukları, üreme güçlüğü ve ilerleyen zayıflık, böbreklerde dejeneratif defektler, yavru atma ve sallantılı yürüyüş, bacakların

titremesi, spazm, felç gibi sinirsel semptomlar, kseroftalmi, büyümenin yavaşlaması ve hastalıklara karşı direncin azalması görülür. Vitamin A yetersizliğinde bu önemli belirtiler dışında genellikle mukoza yapısının bozukluklarına, solunum ve ürogenital yollarda sertleşme, diş oluşumu bozuklukları, sinirsel dejenerasyonlar görülür (95).

A vitamini eksikliğinde embriyo segmentasyonu büyüme ve gelişmesi yavaşlar, vaskülarizasyon durur, embriyo rezorbe olur. A vitamini erişkin organizmaların çoğu hücrelerindeki farklılaşma ve proliferasyonunda etkin rol oynar (135-137). A vitaminin fazlalığı da embriyogenez esnasında teratojenik etki gösterebilir (138).

### **3.6. Galektinler**

Galektinler; mantarlar, omurgalı, omurgasızlar ve memelilerde bulunan bir B-galaktosid bağlayıcı bir proteindir (139). Galektinler belirli oligosakkaritler için afinitesi olan memeli lektinleridir (140). Galektin ailesine dahil olmak için iki özelliğe sahip olmak gerekir; bunlardan ilki B-galaktositler için afinitesinin olması diğeri ise korunmuş bir CRD sekans motifli tanıma alanına sahip olmasıdır (139). Galektinler; embriyogenez, hücre adezyonu, hücre proliferasyonu, apoptoz, bakteriyal kolonizasyon ve immün yanıtın düzeltilmesi gibi çeşitli biyolojik olaylarda rol oynamaktadır (141-144).

Ayrıca galektinler otoimmün hastalıklar, alerjik reaksiyonlar, enflamasyon, tümör yayılması, ateroskleroz ve diyabetik komplikasyonlar dahil olmak üzere çeşitli patolojik durumlarda önemli rol oynarlar (145-147).

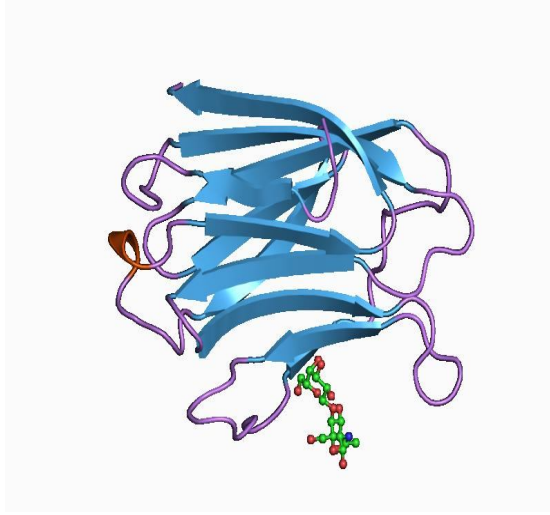
Galektinler temel yapısal özelliklerine göre, Proto (P), Chimera (C) ve Tandem Repeat (TR) olmak üzere üç tipe ayrılır.

- Proto tipi galektinler; alt birimi başına CRD sekansı ve kovalent olmayan homodimerleri ile bağlantılı bir yapı içerir (148).
- Chimera tipi galektinler bir C terminal CRD, prolin ve glisin bakımından zengin bir N-terminal alanına sahiptirler.
- Tandem Repeat tipi galektinler de 2 CRD sekansını peptidle birleştirir. Son zamanlarda yapılan araştırmalarda yeni bir TR tipi galektin-4 CRD sekansının birleşimi bulunmuştur (149).

Proto ve Tandem Repeat tipleri birkaç farklı galektin alt tipleri içerirler. Memelilerde bugüne kadar 15 ayrı galektin tanımlanmıştır. Galektin; 1, 2, 5,7, 10, 11, 13, 14 ve 15 Proto tip, Galektin; 4, 6, 8, 9 ve 12 Tandem Repeat tipi, sadece Galektin-3 Chimera tip ailesine aittir. Galektinlerin pek çoğu değişik mekanizmalar üzerinden proapoptotik görev üstlenirken, galektin-3 ailenin tek antiapoptik üyesidir (150). Galektinlerin yaygın bir özelliğide B-galaktozidler için bir afiniteye sahip yaklaşık 135 aminoasitin en az 1 tane karbonhidrat tanıma alanının varlığıdır (151). Galektinler sadece çekirdek ve sitoplazmada değil aynı zamanda da ekstraselüler matrikste de mevcuttur (152).

### **3.6.1. Galektin-3**

Galektin-3 (Gal-3 ) proteini glikolipid ve glikoproteini B-galaktozid bağıyla bağlayan ve Gal-3 proteini 29 ila 34 Kda ağırlığında olan memeli lektinidir (153-156).



**Şekil 18.** Galektin-3 proteinin kristal yapısı (157)

Bu protein hücredeki proliferatif durum ve hücre tipine bağlı olarak çekirdekte sitoplazmada ya da hücre yüzünde bulunabilmektedir. Fakat ağırlıklı olarak sitoplazma içerisinde bulunur. Bu da galektin-3`ün çok fonksiyonlu olduğunun kanıtıdır (158). Her bir galektin çeşitli doku ve hücrelerde belirli bir model sergiler. Gal-3 aktif makrofajlar, eozinofiller, nötrofiller, mast hücreleri, gastrointestinal ve solunum epitel yolları, böbrekler ve bazı duyu nöronlarında tespit edilmiştir.

Ayrıca Gal-3 insan pankreas, kolon, mide baş, boyun, göğüs, meme ve tiroid karsinomları gibi birçok tümörlerin metastazında rol oynar (159-170). Gal-3`ün hücre içerisinde apoptoza karşı koruma ve nükleer pre-mRNA ekleme gibi çeşitli rollerde görev aldığı belirtilmiştir (148).

Gal-3 enflamasyon ve fibrosis ile ilişkili bir markırdır ve üretimi makrofajların aktive olmasına bağlıdır. Akut enflamasyon ve fibrotik hasarlarda ortaya çıktığı belirtilmiştir (171-173). Gal-3 proteini; enflamasyon esnasında Kupffer hücreleri, dentrik hücreler ve makrofajlardan salgılanır ve enflamasyona bağlı olarak hücre



içi ve hücre dışında ekspresyonunda artış gözlenir (174-175). Gal-3 geniş neoplazma aralığı ve özel ligantları ile etkileşimi sayesinde hücre büyümesi, adezyon, farklılaşma, apoptoz, metastaz gibi çok sayıda biyolojik olaya katılır (176). Gal-3, galektin ailesinin diğer üyeleri arasında en çok çalışılan lektindir (176-178).

Gal-3 hücre içerisinde antiapoptik aktiveye sahipken hücre dışında T hücrelerinin apoptosisini teşvik ettiği öne sürülmüştür (179). Gal-3 erkek üreme sisteminde; testis, epididimis, vas deferens, prostat, seminal vezikül, sperm protein ekstrelerinde, Sertoli hücrelerinde ve spermatogenik hücrelerde belirlenmiştir. Aynı zamanda spermlerin olgunlaşmasında rol oynadığı bildirilmektedir (180-182). Yapılan çalışmalarda, prostat kanserinin ilerlemesinde tümör ile Gal-3 arasında doğrudan bir ilişki olduğu ifade edilmiştir (183). Ayrıca Gal-3'ün infertil insanlar ya da sıçanların testiküler hücrelerinde nükleer yerleşime sahip olduğu rapor etmiştir (184).

Bir B-galaktozid bağlayıcı proteini olan Gal-3'ün dağılımı ve varlığı domuz testis ve epididimisinde de tespit edilmiştir. Özellikle Gal-3 immün reaksiyonu en yoğun epididimisin kuyruk bölgesinde görülmüştür (185).

Biz çalışmamızda sıçanlarda akrilamid toksisitesi ile oluşturulmuş testiküler hasar üzerine all trans retinoik asitin etkilerini histokimyasal ve immünohistokimyasal tekniklerle incelemeyi planladık.

#### 4. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamız için Fırat Üniversitesi (F.Ü.) Hayvan Deneyleri Etik Kurulundan 29.01.2014 tarihli ve 2013/3 sayılı toplantıda 36 nolu karar ile onay alınmıştır. Bu çalışmada denek olarak kullanılan Wistar Albino cinsi sıçanlar F.Ü. Deney Hayvanları Merkezi (FÜDAM) biriminden temin edilmiştir. Deney, Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Araştırma Merkezi'nde (FÜDAM) gerçekleştirildi. Deney için 24 adet Wistar Albino cinsi erkek sıçan kullanıldı. 21°C oda ısısında 12 saat ışık (07:00-19:00) ve 12 saat karanlıkta (19:00-7:00) tutulan sıçanlar, özel olarak yaptırılan kafeslerde beslendi. Yemler çelik kaplarda, su; cam biberonlarda (çeşme suyu) verildi. Hayvan yemleri Yem Sanayii T.A.Ş. Elazığ Yem Fabrikasında hazırlanan pelet yemlerdir (Tablo 1).

**Tablo 1.** Deney Hayvanlarına Verilen sıçan Yeminin İçeriği

---

Buğday (%)	15
Mısır (%)	10
Arpa (%)	27
Kepek (%)	8
Soya (%)	29,4
Balık Unu (%)	8
Tuz (%)	0,6
Kavimix VM 23-Z (%)*	0,2
Methionin (%)	0,2
DCP (%)**	1,6

---

\*1 gramında : 4800 IU A, 960 IU D<sub>3</sub>, 12 mg E, 0,8 mg K<sub>3</sub>, 0,8 mg B<sub>1</sub>, 2,4 mg B<sub>2</sub>, 1,2 mg B<sub>6</sub>, 0,006 mg B<sub>12</sub> 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.

---

#### 4.1. Deneklere Uygulama Planı

Çalışmada 24 adet 4 haftalık, 130-150 gr ağırlığında Wistar Albino cinsi erkek sıçanlar kullanıldı. Denekler, her biri 6 sıçan içeren 4 gruba ayrıldı.

**Grup I :** Kontrol grubu olarak kullanılan sıçanlardan oluşturuldu. (n:6)

**Grup II:** Sıçanlara 4 hafta boyunca intraperitoneal (i.p) yolla 40 mg/kg/gün akrilamid serum fizyolojik ile çözülerek verildi. (n:6)

**Grup III:** Sıçanlara 4 hafta boyunca i.p yolla 40 mg/kg/gün akrilamid ile beraber 4 hafta boyunca oral gavajla 5 mg/kg/gün all trans retinoik asit zeytinyağında çözülerek verildi. (n:6)

**Grup IV:** Sıçanlara 4 hafta boyunca oral gavajla 5 mg/kg/gün all trans retinoik asit zeytinyağında çözülerek verildi. (n:6)

Deneyin sonunda, sıçanlar ketamin (10 mg/kg) ve ksilazin (75 mg/kg) anestezisi altında servikal dekapitasyon yöntemiyle ötenazi edildi. Batın rezeke edilip testis dokuları çıkarılarak 6 saat süreyle Bouin solüsyonunda tespit edildi. Tespit aşamasından sonra dokular sırasıyla %50, %60, % 70', % 80, % 90, % 96, ve % 100'lük etanol serilerinden geçirildi. Ksilolde parlatılıp ısısı 56 °C olan etüvde parafin infiltrasyonu yapıldı. Takiben parafin (Sigma-paraplast embedding media, Steinheim, Germany) bloklar hazırlandı. Bu parafin bloklardan 5 µm kalınlığında kesitler alındı. Kesitlerin bir kısmına Hematoksilen ve Eozin (H&E), Periodic Acid Schiff (PAS), ve Masson'un 3'lü boyama teknikleri kullanılarak histokimyasal boyama yapıldı. Geri kalan doku kesitleri ise immünohistokimyasal olarak streptavidin- biotin- peroksidaz yöntemiyle poliklonal Gal-3 antikor işaretlemesi için ayrıldı.

## 4.2. İmmünohistokimya

Parafin bloklardan 5 µm kalınlığında kesitler polilizinli lamlara alındı. Ksilolde deparafinize edilen dokular dereceli etanol serilerinden geçirilerek dehidrate edildikten sonra distile suya alındı. Dokular antigen retrieval için sitrat tampon solüsyonunda pH: 6'da mikrodalga fırında (750 W) 7+5 dk kaynatıldı. Endojen peroksidaz aktivitesini önlemek için H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>( TA-060-HP, Lab Vision Corporation, USA) ile muamele edildi. Zemin boyasını engellemek için Ultra V Block (Ultra V Block, TA-060-UB, Lab vision Corpartion, USA) solüsyonu ile muameleden sonra primer antikor (Galectin-3 sc-20157, rabbit polyclonal IgG, Santa Cruz Biotechnology, USA) ile 60 dk inkübe edildi. Primer antikor uygulanmasından sonra sekonder antikor (Biotinylated Goat Anti-Poliyvalent (anti mause\ rabbit IgG), TP-060-BN Lab Vision Corporation, USA) ile nemli ortamda 30 dakika oda ısısında inkübe edildi.

Takiben Streptavidin HRP (Horse radish peroksidaz) (TS-060-HR, Lab Corporation, USA) ile 30 dk inkübe edildi. Fosfat tampon çözeltisi (phospate buffered saline, PBS) ile yıkandıktan sonra dokulara AEC (3-Amino-9-ethyl carbazole), (TA-060-HA, Lab Corporation, USA) solüsyonu damlatılıp ışık mikroskobunda görüntü sinyali alındıktan hemen sonra distile su ile yıkandı. Distile su ile yıkanan kesitlere Harris hematoksilin ile zıt boyama yapıldı. Çeşme suyunda mavilik gidinceye kadar yıkanan kesitler distile su ile yıkanıp Large Volume Vision Mount, TA-125-UG, UK) solüsyonu ile kapatıldı. Hazırlanan preparatlar Olympus BH-2 fotomikroskopta incelenerek değerlendirildi ve fotoğraflandı. İmmünohistokimyasal boyamanın değerlendirilmesinde boyamanın şiddeti ve yaygınlığı esas alındı. İmmün boyamanın şiddeti ve yaygınlığı 0 (yok),

+1 (az), +2 (orta), +3 (şiddetli)'e kadar sayı ile semi-kantitatif olarak değerlendirildi (Tablo II, III)

### **4.3. Enzim-Bağlı İmmün Assay Yöntemi (ELISA)**

ELISA, antijen ve antikorların kompleks oluşturma esasına dayalı biyolojik numunelerde konsantrasyonların belirleyen yöntemdir. Bu çalışmada ELISA kiti üretici firmanın kataloğunda belirtildiği gibi (E-EL-R0072, Elabscience, USA) çalışılarak testosteron düzeyleri ölçülüp, ELx800 cihazında 450nm'de okutuldu.

### **4.4. İstatistik**

Elde edilen veriler ortalama  $\pm$  standart sapma olarak belirlendi. İstatistiksel analiz için SPSS 22.0 paket programı kullanıldı. Gruplar arası değerlendirme One-way ANOVA ve Posthoc Tukey testi ile yapıldı.  $P < 0.05$  değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

## 5. BULGULAR

### 5.1.Klinik Bulgular

ACR uygulamasının 2. haftasından itibaren giderek artan şekilde deneklerde iştah kaybı, periferik nöropatiye bağlı olarak, özellikle arka ayaklarda refleks kaybı, tremor, genel postüral bozukluk, kaslarda zayıflama deneyin sonuna doğru parapareziyi de içeren klinik semptomlar gözlemlendi. Bu bulgular ACR ile birlikte ATRA uygulanan grupta daha hafif seyirliydi (Şekil 20, 21).



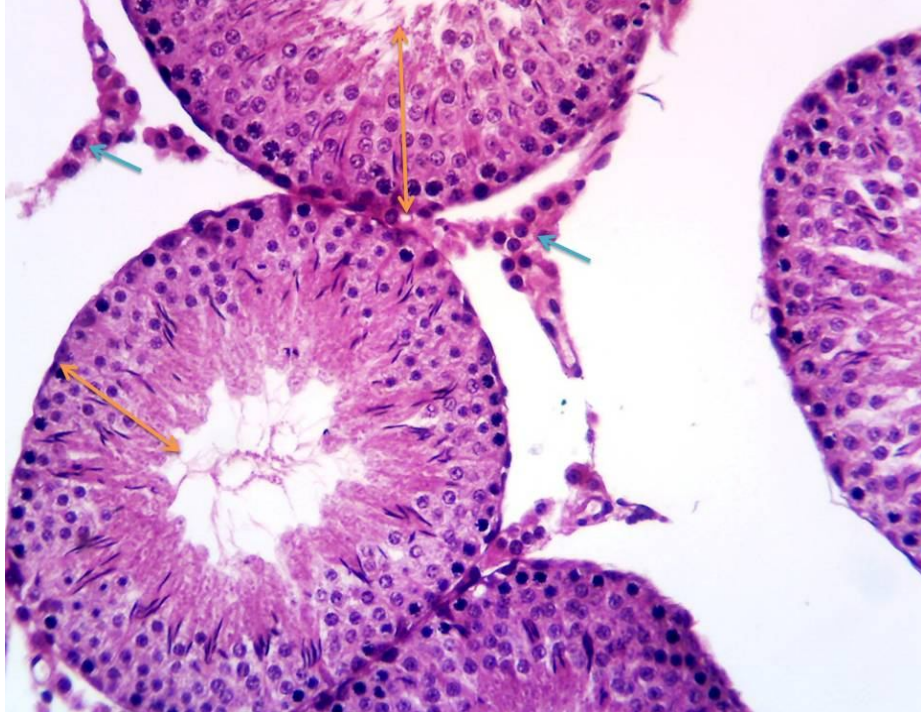
Şekil 19. ACR uygulanmış sıçanlarda paraparezi, genel postural bozukluk.



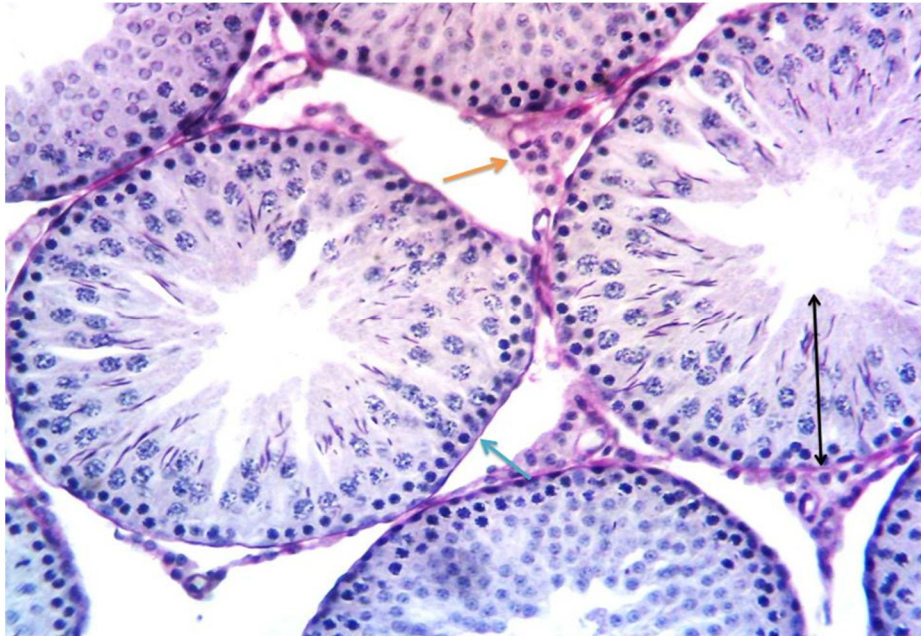
**Şekil 20.** ACR uygulanmış sıçanlarda genel postüral bozukluk ve paraparezi.

## **5.2. Işık Mikroskopik Bulgular**

Kontrol grubuna ait kesitlerde seminifer tübül epiteli, seminifer tübülleri çevreleyen bazal membran, interstisyel alan ve bu alanda yer alan Leydig hücreleri normal olarak gözlemlendi (Şekil 21, 22). Akrilamid uygulanan grupta seminifer tübül epitelinde vakuolizasyon, atrofi, multinükleer dev hücreler, mayoz bölünmenin belli aşamalarında duraksamış hücreler (arrest), tübüllerin lumenine dökülmüş immatür spermatogenik seriye ait hücreler, interstisyel ödem, kontürleri düzensiz atrofik tübüller ayırt edildi (Şekil 23, 24, 25, 26). Akrilamid ile birlikte all-trans retinoik asit (ATRA) uygulanan grupta ise bazı tübüllerde mayoz bölünmenin belli aşamalarında arrest, sadece akrilamid uygulanan gruba göre daha az sıklıkla gözlenen seminifer tübül epitelinde atrofi ve vakuolizasyon saptandı (Şekil 27, 28, 29). Sadece ATRA uygulanan grupta testiküler doku kontrol grubuna benzer şekilde ayırt edildi (Şekil 30).

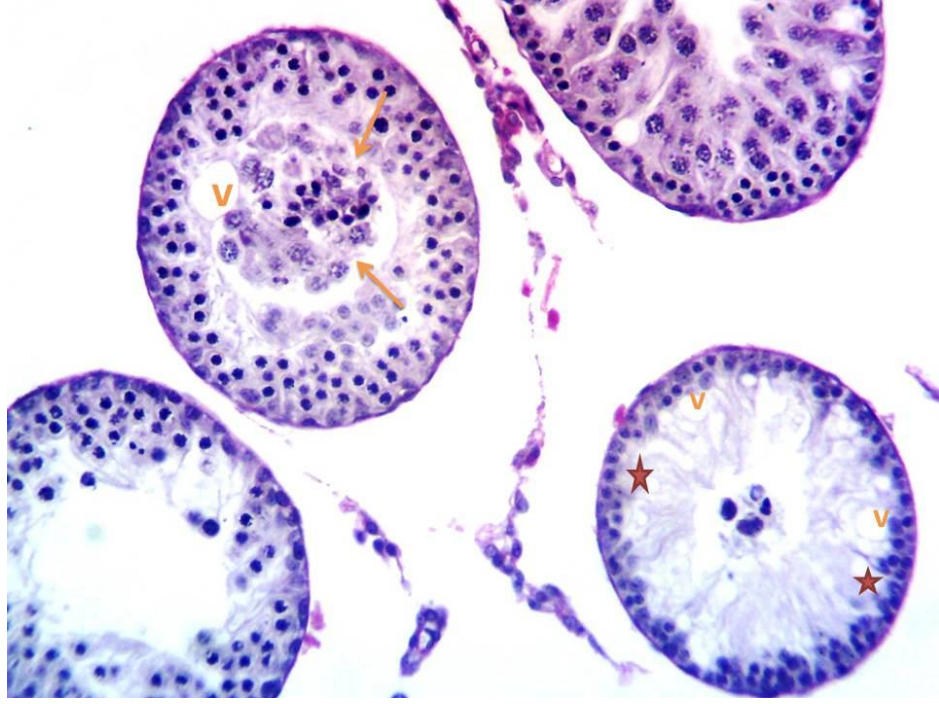


**Şekil 21.** Kontrol grubu. Seminifer tübül epiteli (turuncu ok), interstisyel bölgede yer alan Leydig hücreleri (mavi ok) normal yapıda ayırt edilmekte H.E. 200x

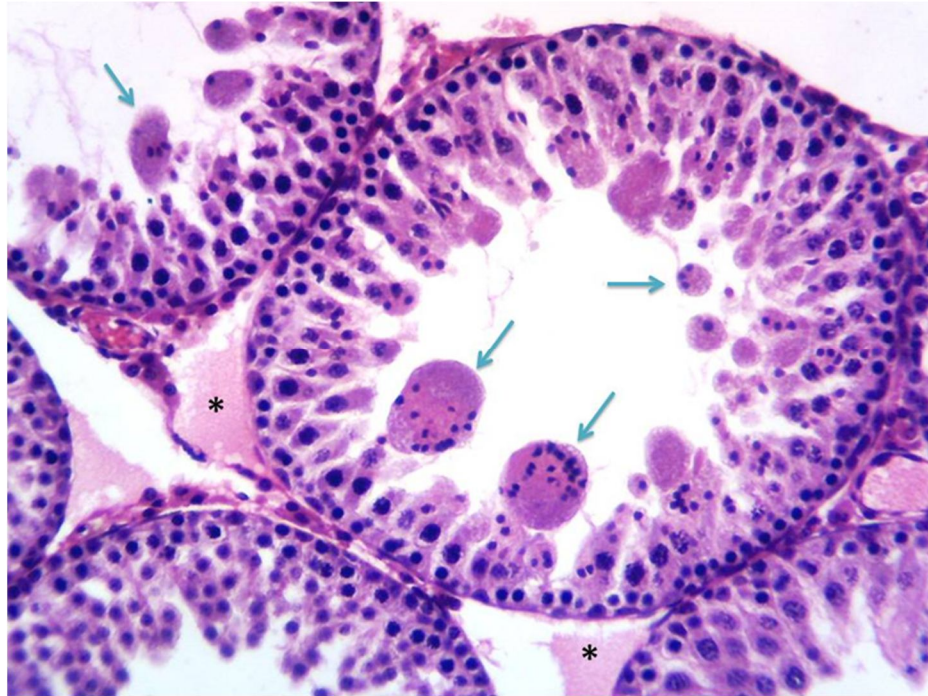


**Şekil 22.** Kontrol grubu. Seminifer tübülü çevreleyen bazal membran (mavi ok) ve interstisyel bölgede yer alan Leydig hücreleri (turuncu ok), normal yapıda gözlenmekte. PAS. 200x

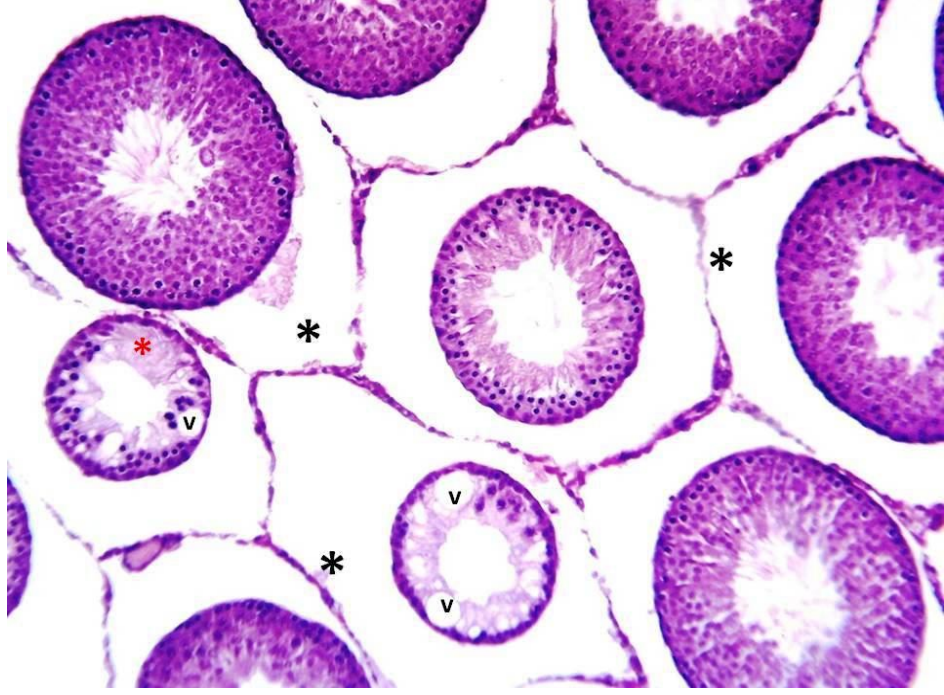




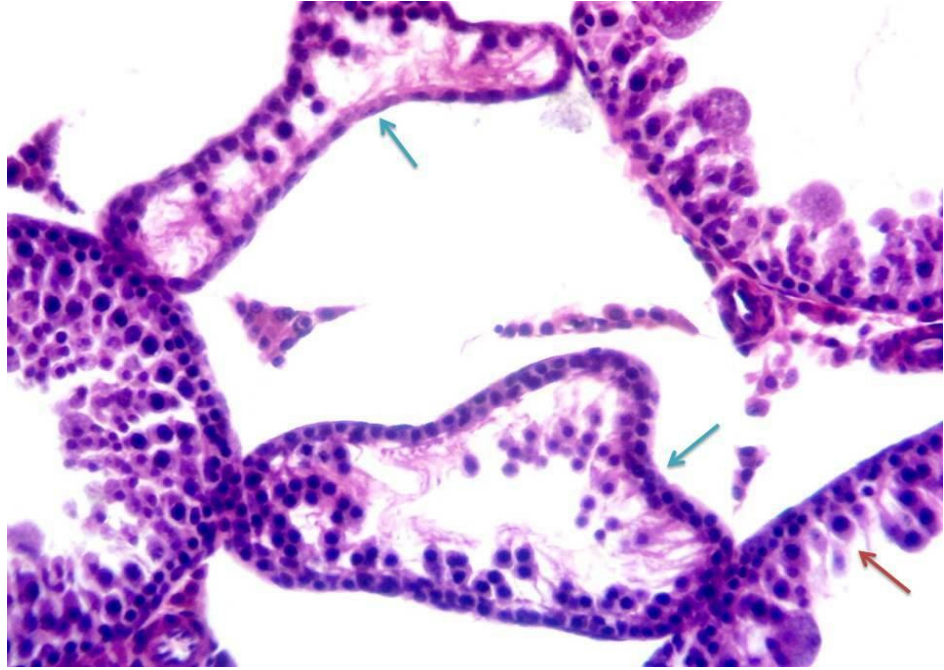
**Şekil 23.** ACR grubu. Seminifer tübül epitelinde atrofi (yıldız), vakuolizasyon (V) ve seminifer tübül lümenine dökülmüş immatür spermatogenik seriye ait olan hücreler (turuncu ok) dikkat çekmekte. PAS. 200x



**Şekil 24.** ACR grubu. Seminifer tübüllerde multinükleer dev hücreler (mavi ok) ve interstisyel bölgede ödem ayrıtılmakta. H.E. 200x

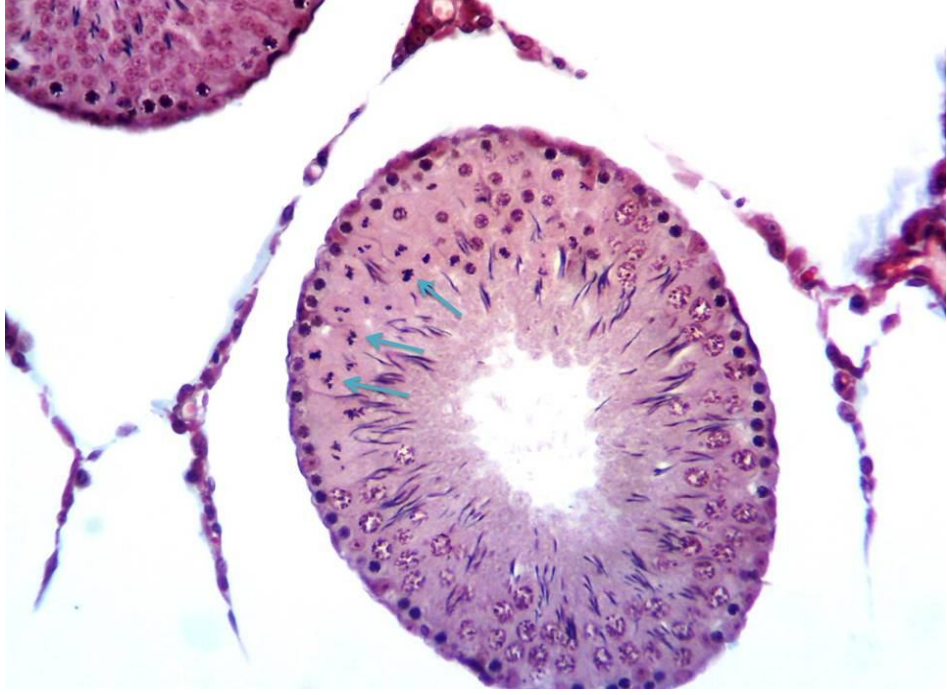


**Şekil 25.** ACR grubu. Seminifer tübül epitelinde atrofi (kırmızı yıldız), vakuolizasyon (V) ve interstisyel bölgede ödem ayrıt edilmekte (siyah yıldız) H.E. 100x

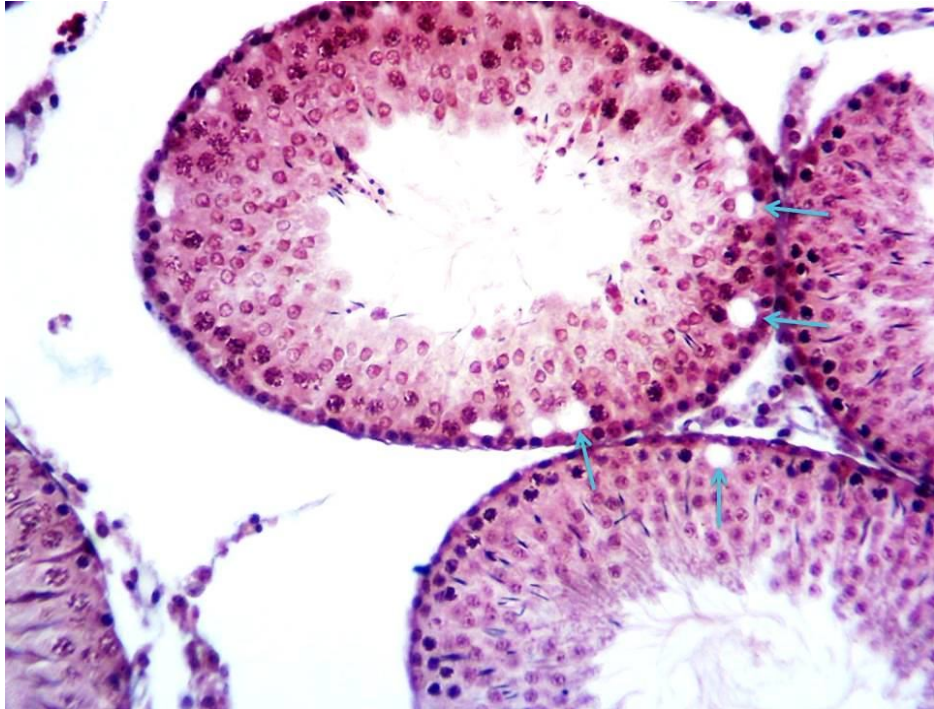


**Şekil 26.** ACR grubu. Seminifer tübülde atrofi (kırmızı ok), kontürleri düzensiz seminifer tübüller (mavi ok) ayrıt edilmekte. H.E. 200x

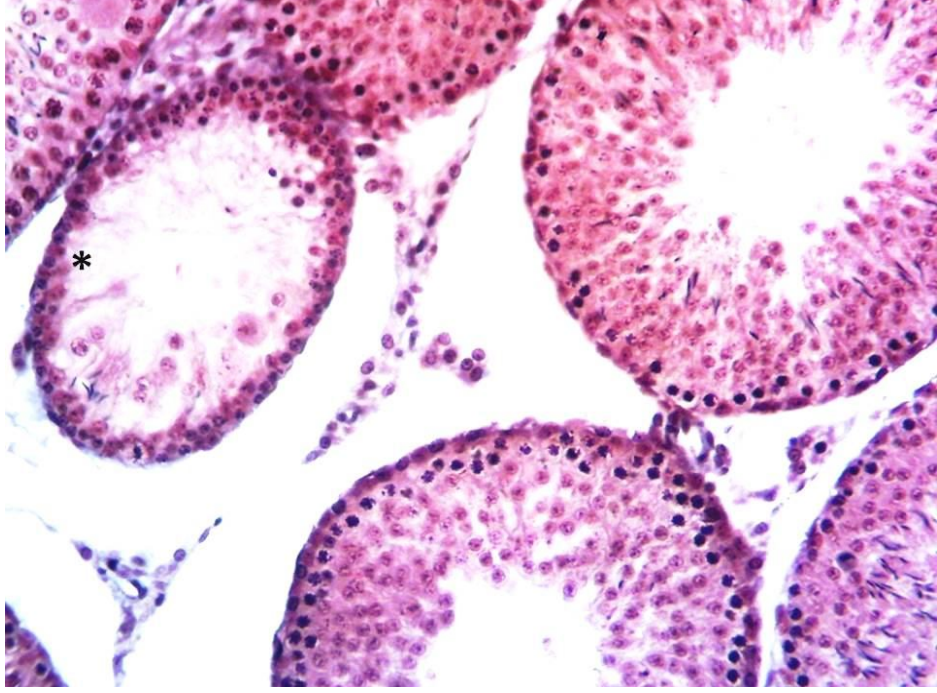




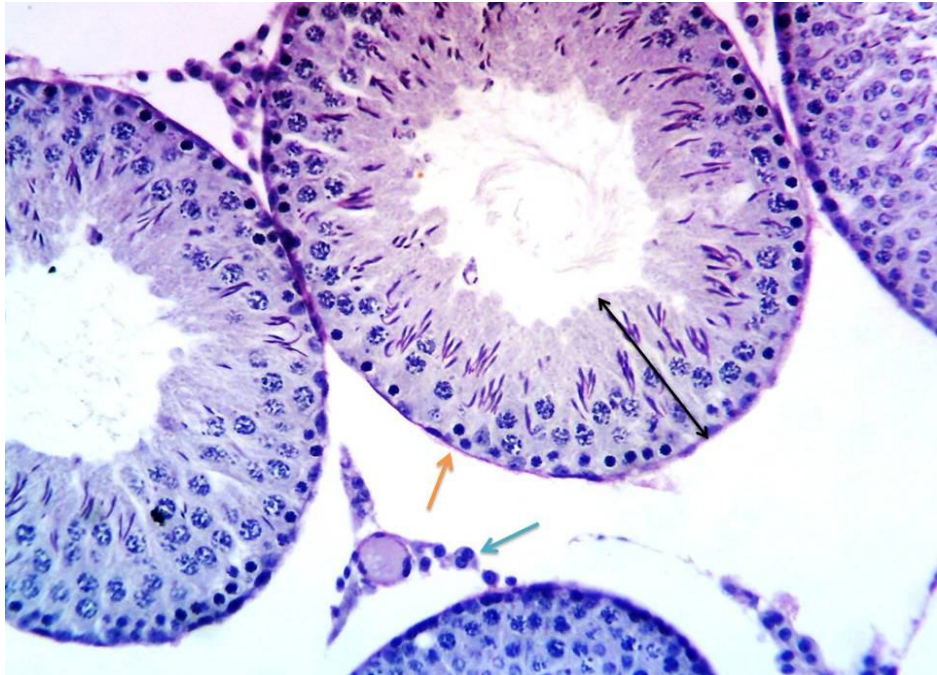
**Şekil 27.** ACR+ATRA grubu. Seminifer tübül epitelinde metafaz aresti (mavi ok) gözlenmekte. Masson'un üçlü boyaması. 200x



**Şekil 28.** ACR+ATRA grubu. Seminifer tübül epitelinde vakuolizasyon (mavi ok) dikkat çekmekte. Masson'un üçlü boyaması. 200x



**Şekil 29.** ACR+ATRA grubu. Seminifer tübül epitelinde atrofi (yıldız) gözlenmekte. Masson'un üçlü boyaması. 200x

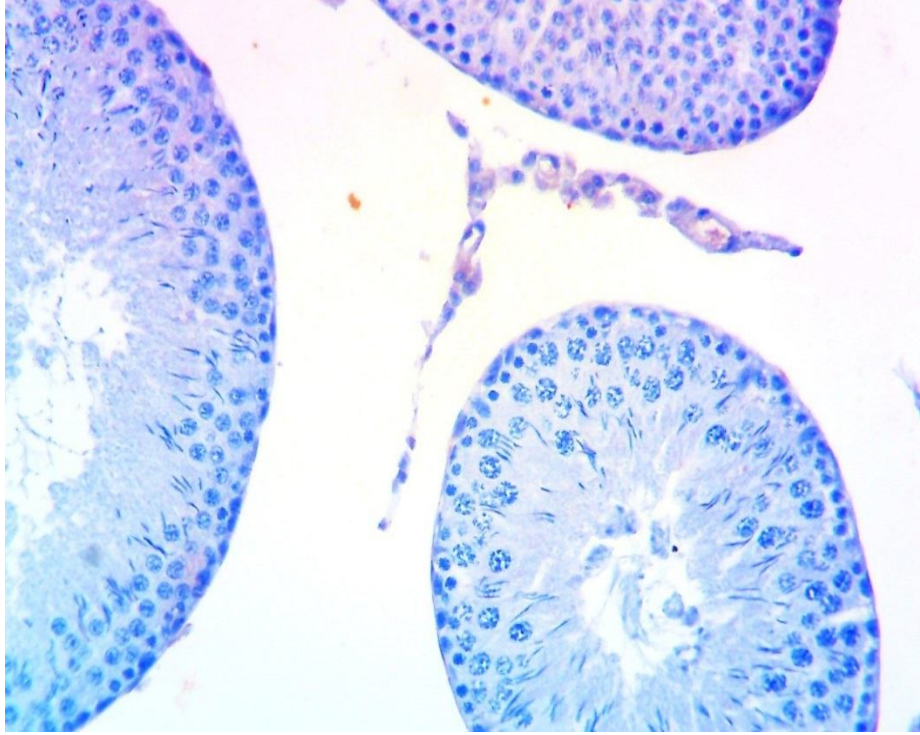


**Şekil 30.** ATRA grubu: Seminifer tübül epitelini çevreleyen bazal membran (turuncu ok) ve interstisyel Leydig hücreleri (mavi ok) normal yapıda ayrıtılmakta. PAS. 200x

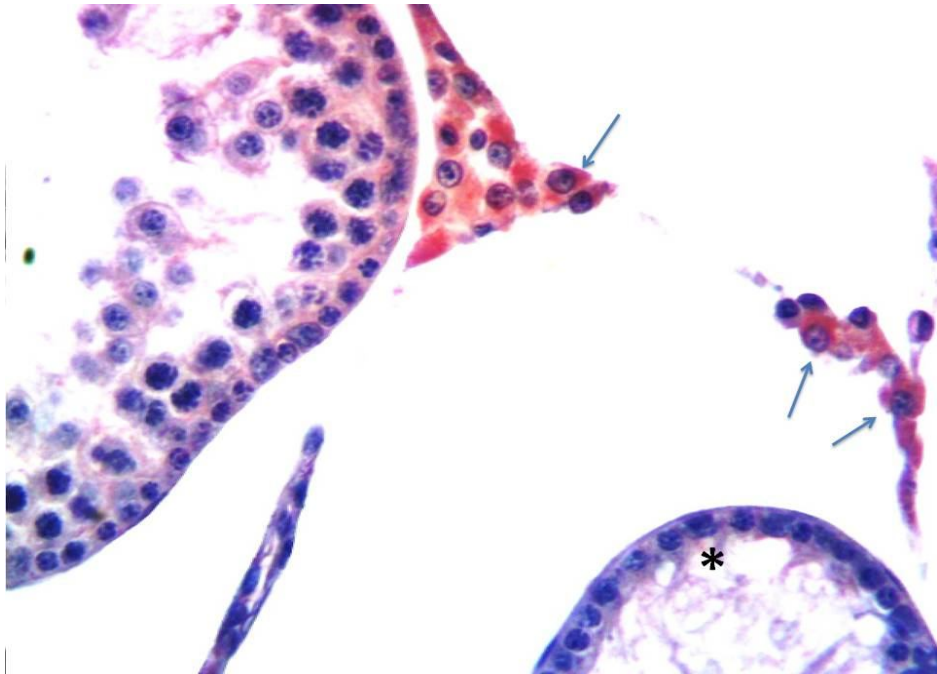
### 5.3. İmmünohistokimyasal Bulgular

Kontrol grubuna ait kesitlerde seminifer tübül epitelini oluşturan hücrelerde ve interstisyel Leydig hücrelerinde galektin-3 immün reaktivitesi gözlenmedi (Şekil 31). Akrilamid uygulanan deneklere ait kesimlerde seminifer tübüllerin bazal kompartmanında yer alan spermatogonyumlar ve interstisyel Leydig hücrelerinde +3 şiddetinde galektin-3 ekspresyonu ayırt edildi (Şekil 32, 33, 34). Akrilamid ile birlikte ATRA uygulanan deneklere ait testiküler doku kesitlerinde de sadece akrilamid uygulanan gruptaki kadar yaygın olmamakla birlikte seminifer tübüllerin bazal kompartmanında yer alan spermatogenik hücrelerde ve interstisyel Leydig hücrelerinde +3 şiddetinde galektin-3 ekspresyonu saptandı (Şekil 35). Sadece ATRA uygulanan deneklerin doku kesitlerinde ise kontrol grubuna benzer şekilde herhangi bir hücre türünde galektin-3 immün reaktivitesi gözlenmedi (Şekil 36).

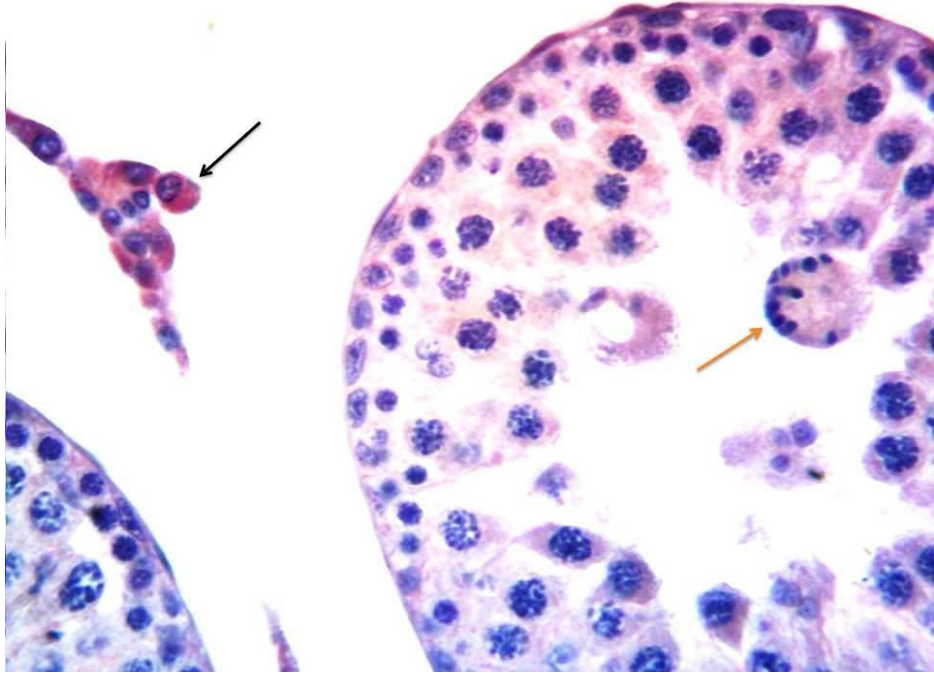




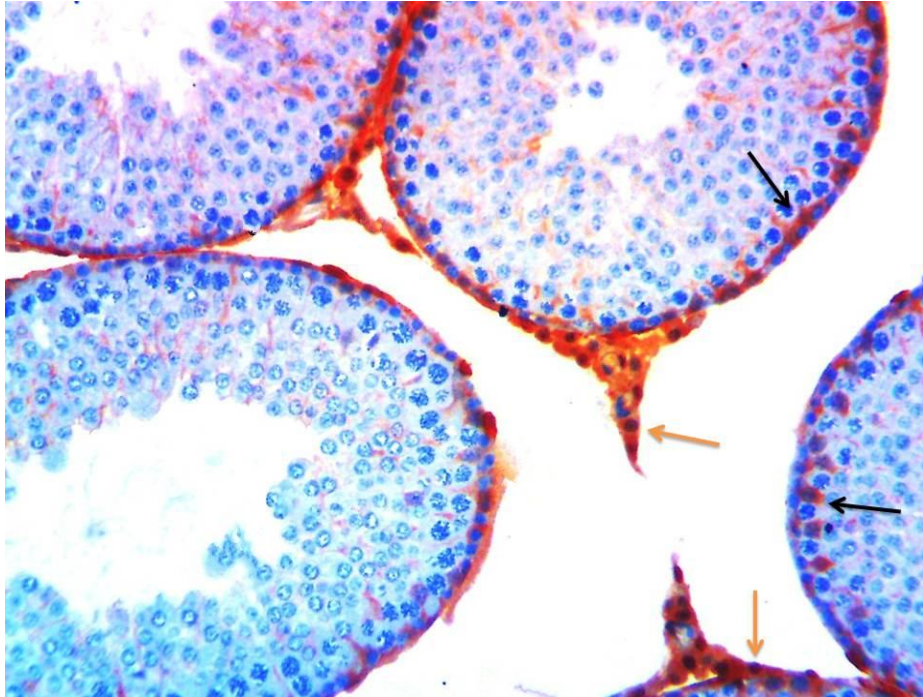
**Şekil 31.** Kontrol grubu. Seminifer tübül epitelini oluşturan hücrelerde ve interstisyel Leydig hücrelerinde galektin-3 immün reaktivitesi gözlenmemekte. 200x



**Şekil 32.** ACR grubu. Seminifer tübül epitelinde atrofi (yıldız) ve interstisyel Leydig hücrelerinde +3 şiddetinde Galektin-3 immün reaktivitesi. 400x

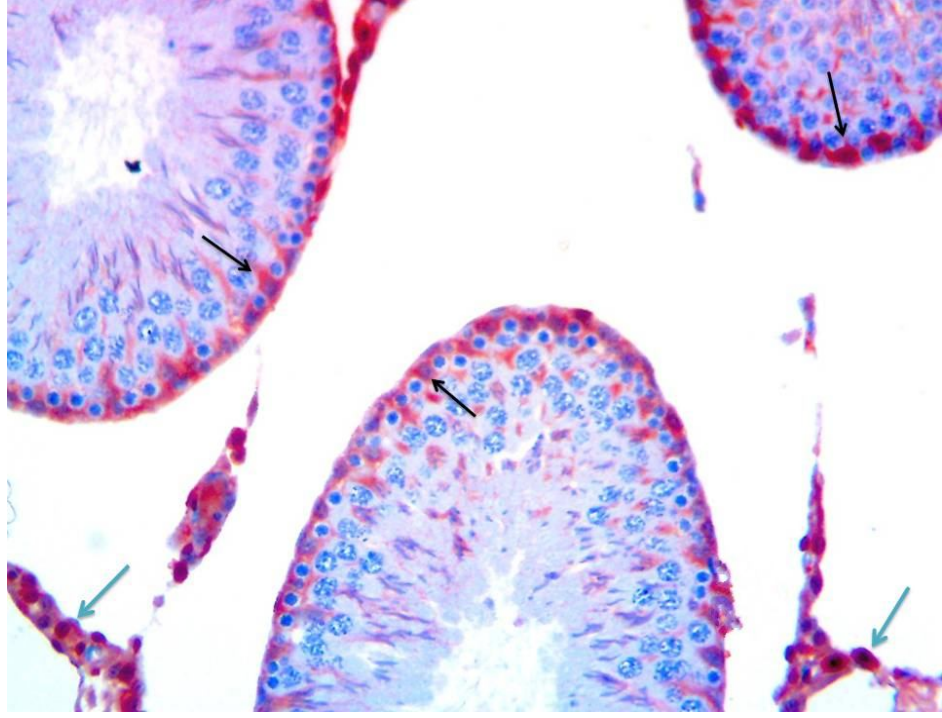


**Şekil 33.** ACR grubu. Seminifer tübül epitelinde multinükleer dev hücrede (turuncu ok) Galektin-3immün reaktivesi gözlenmezken, interstisyel Leydig hücrelerinde (siyah ok) +3 şiddetinde Galektin-3 immün reaksiyonu. 400x

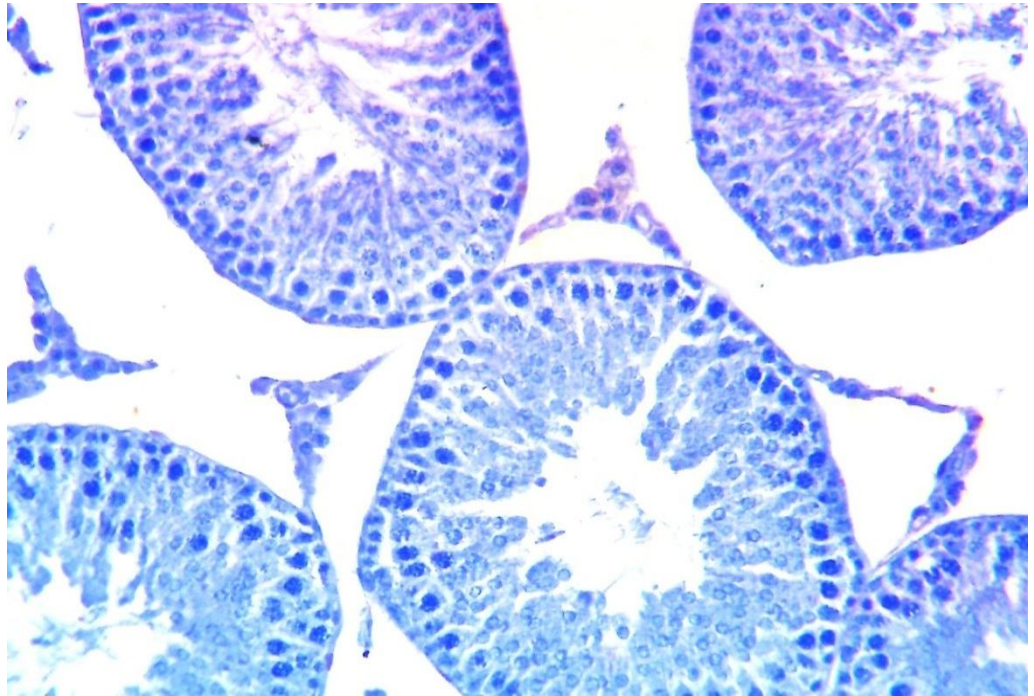


**Şekil 34.** ACR grubu. Seminifer tübül epitelinin bazal kompartmanında yer alan spermatogenik hücrelerde (siyah ok) ve interstisyel Leydig hücrelerinde (turuncu ok) +3 şiddetinde Galektin-3 immün reaksiyonu. 200x





**Şekil 35.** ACR+ATRA grubu. Seminifer tübülün bazal kompartmanında bulunan spermatogenik hücrelerin (siyah ok) ve interstisyel Leydig hücrelerinin (mavi ok) +3 şiddetindeki Galektin-3 immünreaktivitesi. 200x



**Şekil 36.** ATRA grubu. Seminifer tübül epitelinin ve interstisyel Leydig hücrelerinin Galektin-3 negatifliği. 200x



### 5.3. Semikantitatif Analiz

ACR uygulanan grupta bazal kompartmanda bulunan spermatogenik hücrelerde ve interstisyel Leydig hücrelerinde +3 şiddetinde ve yaygınlığında Gal-3 immünreaktivitesi gözlemlendi. ACR ile birlikte ATRA uygulanan grupta ise bazal kompartmanda bulunan spermatogenik hücrelerde ve interstisyel Leydig hücrelerinde +3 şiddetindeki Gal-3 immünreaktivitesi devam ederken sadece ACR uygulanan gruba göre Gal-3 işaretlenmesi daha az yaygınlıkta (+2) ayırt edildi (Tablo 2, 3).

**Tablo 2.** İmmünohistokimyasal Boyanmanın Şiddeti

Grup	Spermatogenik Hücre	Leydig Hücreleri
<b>Kontrol</b>	<b>0</b>	<b>0</b>
<b>ACR</b>	<b>+3</b>	<b>+3</b>
<b>ACR+ATRA</b>	<b>+3</b>	<b>+3</b>
<b>ATRA</b>	<b>0</b>	<b>0</b>

**Tablo 3.** İmmünohistokimyasal Boyanmanın Yaygınlığı

Grup	Spermatogenik Hücre	Leydig Hücreleri
<b>Kontrol</b>	<b>0</b>	<b>0</b>
<b>ACR</b>	<b>+3</b>	<b>+3</b>
<b>ACR+ATRA</b>	<b>+2</b>	<b>+2</b>
<b>ATRA</b>	<b>0</b>	<b>0</b>

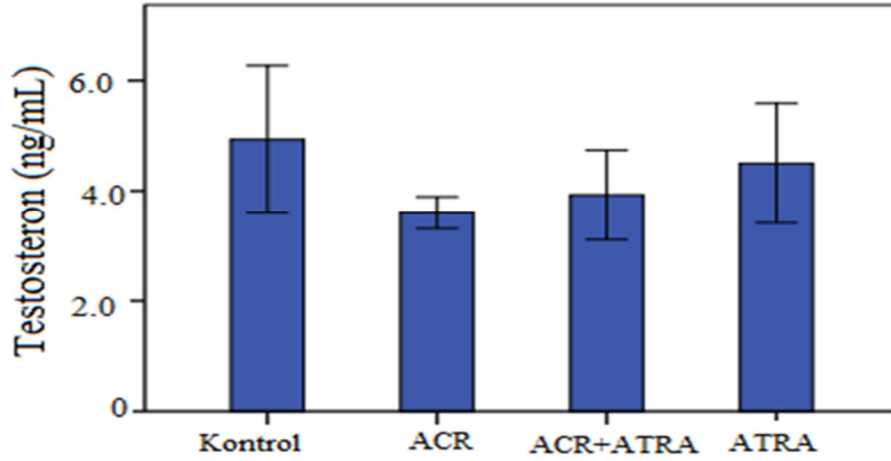
#### 5.4. Serum Testosteron Düzeyleri

Testosteron düzeyleri için yapılan istatistiksel analiz sonucu; kontrol grubu ile karşılaştırıldığında ACR grubunda testosteron düzeylerinde anlamlı azalma izlendi,  $p < 0.05$ . (Tablo 4)

**Tablo 4.** Sıçanların Serum Testosteron Düzeyleri

	Kontrol	ACR	ACR+ ATRA	ATRA
<b>Testosteron düzeyleri(ng/ml)</b>	4.9325±0,84	3,60±0,18 <sup>a</sup>	3,92±0,51	4,50±0,68

<sup>a</sup> kontrol grubu ile karşılaştırıldığında,  $P < 0.05$ .



## 6. TARTIŞMA

Akrilamid doğal yollarla meydana gelen bir bileşik değildir (186, 187). Özellikle yüksek sıcaklıkta pişirilen karbonhidratlı besinlerde (tahıl, kahve, patates, badem yağı) asparagin uçların oluşması ve bununla beraber şekerin indirgenmesi sonucu oluşan karsinogenik bir maddedir (188, 189). Akrilamid; karsinogenez, nörotoksisite, sitotoksisite ve infertilite gibi biyolojik olaylara neden olduğu bilinen toksik bir maddedir (26, 49, 189, 190)

Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı tarafından ACR'nin genel sağlık riskleri şu şekilde belirlenmiştir. Genelde bireyler ACR'ye günlük ortalama 4mg/kg dozunda maruz kalmaktadırlar. Fakat ACR'ye 200mg/kg/gün dozunda maruz kalınması durumunda nörotoksisite, 300 mg/kg/gün dozunda maruz kalınması durumunda ise kanserojen riski taşımaktadır (58, 192). Sıçanlar üzerinde yapılan deneylerde özellikle yüksek dozlarda uygulanan ACR sonucu çeşitli organlarda tümör oluştuğu gözlenmiştir (58).

Son yıllarda yapılan çalışmalarda ACR'nin sıçanlarda sebep olduğu risk değerlendirmeleri yapılmıştır. Bu çalışmalar sonucunda ACR maruziyetine bağlı olarak, dişi ve erkek sıçanlarda tiroid, mide, cilt, akciğer, kalp, pankreas tümörlerinde bir artış görülmüş, erkeklerde testis, peri-testiküler mezotelyoma, kadınlarda ise ovaryum, meme bezi tümörlerinin ortaya çıktığı bildirilmiştir (26, 193, 193).

ACR'nin sebep olduğu klinik semptomlara bakıldığında bu bileşiğin nörotoksik etki gösterdiği rapor edilmektedir (195, 196). İsveç tüneline çalışan işçilerde meydana gelen ACR'ye maruz kalma düzeyleri ve Hb-ACR düzeylerine bakıldığında nörolojik semptomlarla ilişkili olduğu görülmüştür (197). Bu

işçilerin ACR düzeyleri ile el ayaklarındaki karıncalanma ve uyuşukluk arasında bir orantı olduğu tespit edilmiştir (198).

Çin'de ACR'ye kısa süreli maruz kalan hastalarda bacaklarda zayıflık, refleks kaybı, duyu kaybı, uyuşuk el ve bacaklar, uzun süreli maruz kalanlarda ise serebellar disfonksiyona kadar giden nöropatilerin görüldüğü rapor edilmiştir (199, 200). Çalışmamızda ise bu çalışmadaki bulgularla benzer klinik tablo tespit edildi. ACR uyguladığımız gruptaki sıçanların arka bacak kaslarında zayıflık, refleks kaybı, koordinasyon bozuklukları ve hatta deneyin sonuna doğru paraparezi, semptomlar gözlemlendi. Koruyucu amaçla ACR ile birlikte ATRA uyguladığımız gruba ait deneklerde ise bu nöropatik bulgularda nispeten azalma saptandı.

Akrilamid toksisitesi oluşturularak yapılan deneysel çalışmalarda sıçanlarda; testiküler hasar, spermelerde morfolojik anormallikler, üreme parametrelerinde değişim, seminifer tübül epitelinde vakuolizasyon, atrofi, apoptoz, sperm sayısında azalma, şişme, yuvarlak spermatid, germ hücrelerinde kromozom kırılması, hücrel redoks, gonadal hücrelerin ölmesi gibi birçok bulgular elde edilmiştir (201-206).

Sakamoto ve arkadaşları (207), yaptıkları çalışmada 7-14 mg/kg 7-14 mg/kg dozundaki ACR'nin fertilitiyi azalttığı ve seminifer tübüllerde multinükleer dev hücrelere ve çok sayıda apoptotik hücre oluşumuna yol açtığını gözlemlemişler. Biz de yapmış olduğumuz bu çalışmada; 4 hafta boyunca 40 mg/kg/gün dozunda ACR uygulanması sonucunda seminifer tübüllerde; yaygın bir şekilde multinükleer dev hücrelere rastladık.

Wong ve arkadaşları (208), yaptıkları çalışmada 3 haftalık erkek sıçanlara 8 hafta süresince 10 mg/kg/gün dozunda ACR uygulamışlar ve deney sonunda testis ve epididimis ağırlıklarında azalma saptamışlar. Bu çalışmada ayrıca histopatolojik incelemeler sonucunda Leydig hücrelerinde azalma ve serum testosteron düzeyinde düşüş tespit edilmiştir.

Yassa ve arkadaşları da (209), yapmış oldukları çalışmada farklı dozlarda ACR uygulamasıyla oluşturdukları toksisiteye karşı yeşil çayın koruyucu etkilerini incelemişler. Çalışma sonunda ACR uygulanan gruplarda doza bağlı olarak, Leydig hücre hasarı ve spermatogenezde bozulma tespit etmişler. ACR doz artışına paralel olarak serum testosteron düzeyinin düştüğü ve koruyucu amaçla uygulanan yeşil çayın ise testosteron düzeyini normal seviyelere yaklaştırdığı saptanmıştır. Yeşil çayın bu koruyucu etkiyi antioksidan ve serbest radikalleri yok edici etki ile sağlamış olabileceği belirtilmiştir.

Zhang ve arkadaşları da (210), ACR'nin yüksek doz alımına bağlı olarak, testiküler hücrelerde meydana gelen apoptozis ve caspase-3 aktivitesini araştırmışlar ve bu araştırma sonucunda ACR'nin apoptozisi ve casepase-3 aktivitesini arttırdığını gözlemişlerdir. ACR, apoptozis sonucu hücreler üzerinde özellikle morfolojik değişimlere sebep olmuştur. Seminifer tübüllerdeki spermatogenik seri hücreleri ve Sertoli hücreleri bu değişimler sonucu apoptotik cisimcikler oluşturarak programlanmış ölüm sürecine girmiş olarak tanımlanmışlardır. ACR kaynaklı testiküler hasarda; seminifer tübüllerde çok sayıda apoptotik hücre, vakuolleşme, çok sayıda dev hücre oluşumu ve ACR dozuna bağlı olarak Leydig hücrelerinin canlılığını yitirmesi sonucunda serum

testosteron düzeyinin ve dolayısıyla spermatogenez sürecinin bozulması söz konusu olmuştur.

Biz de yaptığımız bu çalışmada bu bulgularla benzer sonuçlar gözlemledik. Bizim çalışmamızda da serum testesteron düzeyi ACR uyguladığımız grupta dikkat çekici bir şekilde düşüş göstermişken ACR+ATRA uyguladığımız grupta bu düşüş daha az bir seviyede belirlendi ve istatiki anlamlılık ifade etmemekteydi.

Histopatolojik incelemelerimizde ACR'nin seminifer tübüllerde vakuolizasyondan atrofiye varan derecede hasar oluşturduğu, immatür spermatogenez hücrelerin seminifer tübül lümenine döküldüğü ayrıca interstisyel ödeme sebep olduğu gözlemlendi. İmmünohistokimyasal boyama sonuçlarının incelenmesinde ise ACR, seminifer tübüllerin bazal kompartmanında yer alan spermatogenez hücrelerde ve interstisyel Leydig hücrelerinde belirgin galektin-3 ekspresyonuna neden oldu. ACR toksisitesine karşı ATRA uygulanan deneklerde ise belirgin galektin-3 immün reaktivitesi devam etmekle birlikte sadece ACR uygulanan gruba göre daha az yaygınlıkta idi.

Yapılan bir çalışmada akrilamidin, gonadal hücrelerde öldürücü dominant bir etki bıraktığı, sperm motilitesine ve morfolojisine zarar verdiği saptanmıştır (211). Ellinger ve arkadaşları (212) ise ACR'nin hücre döngüsüne zarar verdiğini fakat yeşil çayın antioksidan özelliği ile koruyucu etki oluşturduğunu rapor etmişlerdir. Biz de yaptığımız bu çalışmada Ellinger ve arkadaşlarının yaptığı çalışmayla uyumlu olarak ACR ve ACR+ATRA uygulanan gruplarda, spermatogenez hücrelerde mayoz bölünmenin belli aşamalarda duraksadığını

(metefaz arresti) gözlemledik. Bu durumda ACR'nin hücresel döngüyü bozduğunu söyleyebiliriz.

Yapılan deneysel çalışmalarda ACR'nin genotoksisite ve üreme toksisitesini tetiklediği (213, 214), sperm rezervlerini azalttığı (215), spermatogenik seri hücrelerinde dökülmelere (206, 216, 217), ve deneklerde kilo artışına (216) neden olduğu bildirilmektedir. Yine ACR uygulamasıyla spermatogenik hücrelerde dökülmeye ilave olarak nekrozis gözlendiğini belirten çalışmalar da mevcuttur (206, 218.).

A vitamininin bir metaboliti olan ATRA'nın fertilitte, görme, immün fonksiyonlarının düzenlenmesi, hücresel hemeostasis, normal ve neoplastik büyüme gibi biyolojik olaylarda rol oynadığı bilinmektedir (219, 220). ATRA'nın, spermatogenesisde düzenleyici ve organize edici rolü vardır. Spermatogenez sırasında gözlenen proliferatif, mayotik, ve morfojenetik fazlar boyunca spermatogenik hücrelerin çoğalması, mayozla bölünmesi ve farklılaşmaları sürecinde etkili olduğu bilinmektedir (221). Yine A vitamini veya metabolitlerinin doğum sonrası testiküler gelişim için de gerekliliği rapor edilmiştir. Spermatogenezin A vitamini eksikliğine karşı oldukça duyarlı olduğu, A vitamininden fakir diyetle beslenen ergin kemiricilerde geri dönüşümlü infertilite meydana geldiği çalışmalarla desteklenmektedir (222, 223, 224). A vitamini eksikliği ile ilgili yapılan bir çalışmada vücut hücrelerinin çoğunda anormal gelişim ve farklılaşma görülürken, olgun spermatozoid ve Sertoli hücrelerinde azalma, spermatogoniaların farklılaşmalarında bozulma saptanmıştır (225). A vitamini eksikliğinin ayrıca Sertoli hücrelerinin sitoplazmasında ve

Sertoli hücrelerinin oluşturduğu kan-testis bariyerlerinde bozulmalara neden olduğu vurgulanmaktadır (226).

Bizde yapmış olduğumuz çalışmamızda, bir A vitamini metaboliti olan ATRA'nın, ACR ile oluşturulan toksisiteye karşı testiküler dokuyu belirgin derecede koruduğunu gözlemledik. ACR ile birlikte ATRA uyguladığımız grupta seminifer tübül epitelinde atrofi ve vakuolizasyonun oldukça azaldığını tespit ettik. Yine spermatogenik hücrelerin döngüsündeki bozulmanın sadece ACR uygulanan gruba göre belirgin bir azalma gösterdiğini saptandık.

$\beta$ -galaktosid bağlayan bir protein olan Gal-3'ün, çeşitli dokularda hücre proliferasyonu ve apoptoz, immünomodülasyon, hücre-hücre adezyonu, hücre-ekstraselüler matriks adezyonu, tümör ilerlemesi, patojen konak ilişkileri ve sitoskeletal organizasyon gibi birçok hücre içi ve hücre dışı biyolojik fonksiyonlara katkısı olduğu düşünülmektedir (226-229). Gal-3 hücre migrasyonu ve yaraların re-epitelize olması süreçlerinde de etkilidir (230). Makrofajlar yüksek düzeyde Gal-3 üreterek monosit-monosit etkileşimini sağlayıp multinükleer dev hücre oluşumuna neden olurlar (231). Kashani ve arkadaşları (232) vasektomi yapılan farelerde galektin-3'ün özellikle makrofajlar, immün hücreler ve yabancı cisim dev hücrelerince ekspresse edildiğini gözlemlemişler ve galektin-3'ün kronik inflamasyonun belirteci olarak sunulabileceğini iddia etmişlerdir.

Biz de ACR toksisitesi oluşturduğumuz gruplara ait testiküler dokularda galektin-3 immünreaktivitesinde belirginlik ve oldukça yaygın olarak multinükleer dev hücre oluşumu tespit ettik. Seminifer tübüllerde oluşan dejenerasyon ve gelişen inflamatuvar süreçle galektin-3 immünreaktivitesi arasında pozitif bir korelasyon olduğunu düşünmekteyiz. Fakat biz onlardan farklı olarak



multinükleer dev hücrelerde galektin-3 işaretlenmesi gözlemedik. Bizim çalışmamızda galektin-3 işaretlenmesi özellikle bazal kompartmanda yer alan spermatogonik hücreler ve interstisyel Leydig hücrelerinde saptandı. Koruyucu amaçla uyguladığımız ATRA'nın ise galektin-3 ekspresyonunun yaygınlığını azalttığını, seminifer tübül epitelinde iyileşme sağladığını, sadece ACR uygulanan deneklerde anlamlı düşüş gösteren testosteron düzeyinde restorasyon sağladığını söyleyebiliriz. A vitaminin bu koruyucu etkisini, epitelizan ve antioksidan özelliği ile ayrıca serbest radikal oluşumunu bloke ederek veya azaltarak yaptığını düşünmekteyiz.

Sonuç olarak, akrilamid gerek endüstriyel alanda çalışanların, gerekse fast food tarzı beslenme alışkanlıkları olan kişilerin sıklıkla maruz kaldığı toksik bir bileşiktir. Prepubertal dönemdeki çocuklar yeme alışkanlıkları ile bu bileşiğe maruz kalmaktadır. Çalışma öncesinde kronik akrilamid maruziyetinin puberte öncesinden başlayarak testiküler gelişimi menfi etkiliyeceğini ve akabinde çocukların fertilitelerini tehdit edebileceğini düşünmüştük. Yaptığımız bu deneysel çalışma sonrasında bu öngörümüzle örtüşen sonuçlar elde ettik. Testiküler dokuda vakuolizasyondan atrofiye varan derecede önemli patolojiler gözlemledik. Serum testosteron düzeyinin düştüğü ve buna bağlı olarak spermatogenezde bozulmalar şekillendiğini ayırt ettik. Seminifer tübül dejenerasyonu ile galektin-3 immünreaktivitesi arasında pozitif bir korelasyon olduğunu saptadık. Bu anlamda galektin-3'ün testiküler patolojinin gelişmesine katkı sunduğunu söyleyebiliriz. ATRA'nın da spermatogenez ve testiküler doku bütünlüğünün korunmasına olan olumlu etkileri yaptığımız bu çalışma ile de teyit edildi.

Bu alışma ile; kronik akrilamid toksisitesinin insan sağlığı üzerine olan olumsuz etkileri ve akrilamide karşı tedbir alınması gerektiği konusunda bir farkındalık oluştuğu, gelecekte farklı çalışma protokolleri ve tekniklerle yapılacak olan deneysel çalışmalar ile akrilamide karşı farklı profilaktik tedbirler geliştirilebileceği kanaatine varılmıştır.

## 7. KAYNAKLAR

1. Kierszenbaum AL, Tres LL. Histology and Cell Biology. Philadelphia: Saunders 2012: 587-589.
2. Ovalle WK, Nahirney PC. Netter's Essential Histology. Müftüoğlu S, Kaymaz F, Atilla P (Çevirenler). Ankara: Güneş Tıp Kitabevleri, 2009.
3. <http://www.dicle.edu.tr/Contents/01baef8f-7b2e-4395-afc0-3132c45538c9.pdf>, 27.07.2015
4. Junquera LC, Carneiro J. Temel Histoloji. Solakoğlu S, Aytekin Y (Çevirenler). 11. Baskı, İstanbul: Nobel, 2009.
5. <http://www.siumed.edu/~dking2/erg/RE028b.htm>, 25.07.2015
6. Ross MH, Pawlina W. Histology A Text And Atlas. 6th Ed, Baltimore, Philadelphia: Lippincott 2011; 792-800.
7. Moore KL, Persaud TVN, Torchia MG. The Developing Human. 9 th Edition, Philadelphia: Elsevier Saunders 2013: 265-267.
8. Sadler Tw. Langman's Medikal Embriyoloji. 6.Baskı, Ankara: Palme, 1993: 259.
9. Moore KL, Persaud TVN, TorchiaMG Klinik yönleriyle İnsan Embriyolojisi. Dağlık H, Yıldırım M (Çevirenler). 8. Baskı, İstanbul: Nobel, 2009: 262-281.
10. Özen OA, Kavaklı A, Kuş İ ve ark. Anatomi. 1.Baskı, Ankara: Nobel, 2009:189-193.
11. Arıncı K, Elhan A. Anatomi. 5. Baskı, Ankara: Güneş Tıp Kitabevleri, 2014: 330.
12. Odar İV, Anatomi. 2.Baskı, Ankara: Hacettepe-Taş, 1984: 284-285.
13. Yıldırım M. Temel anatomi. İstanbul: Nobel, 1997: 338-339.
14. Richmond P, Borrow R. Acrylamide in Food. J The Lancet 2003; 361,2: 361- 362.
15. Lingnert H, Grivas S, Jagerstad M, Skog K, Tornqvist M, Aman P, Acrylamide in food: mechanisms of formation and in influencing factors during heating of foods. Scandinavian Journal of Nutrition 2002; 46 (4): 159–172.
16. Friedman M, Chemistry, biochemistry and safety of acrylamide: A review, J Agric Food Chem 2003; 51(16): 4504-4526.
17. <https://en.wikipedia.org/wiki/Acrylamide#/media/File:Acrylamide-2D-skeletal.png>, 27.07.2015.
18. <https://en.wikipedia.org/wiki/Acrylamide#/media/File:Acrylamide-MW-2000-3D-balls.png>, 27.07.2015.
19. Smith E, Pruen A, Oehme SL. Environmental degradation of polyacrylamides. 1. Effects of artificial environmental conditions: temperature, light and pH. Ecotoxicol. En Viron Saf 1996; 35: 121-135.
20. Smith EA, Prues S L, Oehme FW. Environmental degradation of acrylamides II. Effects of environmental (outdoor) exposure. Ecotoxicol. EnViron Saf 1997; 37: 76-91.
21. Abramsson-Zetterberg L. The dose-response relationship at very low doses of acrylamide is linear in the flow cytometer-based mouse micronucleus assay. J Mutat Res 2003; 535: 215-222.

22. Wanga H, Huanga P, Lie T et al. Reproductive toxicity of acrylamide-treated male rats. *Reprod Toxicol* 2010; 29(2): 225-30.
23. Friedman M. Acrylamide: inhibition of formation in processed food and mitigation of toxicity in cells, animals, and humans. *Food Funct* 2015; jun6(6):1752-72
24. Anonymous. Health implications of acrylamide in food. Report of a Joint FAO/WHO Consultation. World Health Organization, Geneva 2002: 25–27. ([www.who.int/fsf/acrylamide/SummaryReportFinal.pdf](http://www.who.int/fsf/acrylamide/SummaryReportFinal.pdf)).
25. Rozan P, Kuo YH, Lambein F. Amino acids in seeds and seedlings of the genus *Lens*. *Phytochemistry* 2001; 58: 281-289.
26. Virk-Baker M, Nagy TR, Barnes S and Groopman J. Dietary Acrylamide and Human Cancer: A Systematic Review of Literature. *Nutr Cancer* 2014;66(5):774-790
27. Mottram, DS, Wedzicha BL, Dodson AT. Food chemistry: acrylamide is formed in the Maillard reaction *Nature* 2002; 419: 448–449.
28. Zyzak DV, Sanders RA, Stojanovic M et al. Acrylamide formation mechanism in heated foods *J Agric Food Chem* 2003;5:4782–4787.
29. Eriksson S. Acrylamide in food products: identification, formation and analytical methodology. Doctorate Thesis, Stockholm 2005.
30. Zhang Y, Zhang G. Occurrence and analytical methods of acrylamide in heat-treated foods: review and recent developments. *J Chromatogr* 2005; 75: 1–21.
31. Vatter DA, Shetty K, Acrylamide in food: a model for mechanism of formation and its reduction. *Innov Food Sci Emerg* 2003; 4: 331–338.
32. Claeys WL, De Vleeschouwer K, Hendrickx ME, Quantifying the formation of carcinogens during food processing: acrylamide. *Trends Food Sci Technol* 2005; 16: 181–193.
33. Richmond P, Borrow R. Acrylamide in Food. *The Lancet* 2003; 361(2): 361-362.
34. Anese M, Suman M, Nicoli MC, Technological strategies to reduce acrylamide levels in heated foods. *Food Eng Rev* 2009a; 1: 169–179.
35. Halford NG, Curtis TY, Muttucumaru N, Postles J, Elmore JS, Mottram DS, The acrylamide problem: a plant and agronomic science issue. *J Exp Bot* 2012; 63: 2841–285
36. Pedreschi F, Maria SM, Kit G, Current issues in dietary acrylamide: formation, mitigation and risk assessment. *J Sci Food Agric* 2014; 15: 9–12
37. Chen M, Hsu H, Lin C, Ju WY. A statistical regression model for the estimation of acrylamide concentrations in French fries for excess lifetime cancer risk assessment. *Food Chem. Toxicol* 2012; 50: 3867–3876
38. Ezeji TC, Groberg M, Qureshi N, Blaschek HP. Continuous production of butanol from starch-based packing peanuts. In: *Biotechnology for Fuels and Chemicals*. Humana Press 2003; 375–382.
39. Halford NG, Curtis TY, Muttucumaru N, Postles J, Mottram DS. Sugars in crop plants. *Annals of Applied Biology* 2011; 158;1–25.

40. Mottram DS. The Maillard reaction: source of flavour in thermally processed foods. In: RG Berger, ed, *Flavours and Fragrances: chemistry, bioprocessing and sustainability*. Berlin: Springer-Verlag 2007; 269–284.
41. De Vleeschouwer K, Van der Plancken I, Van Loey A, Henndrickx ME. Role of precursors on the kinetics of acrylamide formation and elimination under low moisture conditions using a multiresponse approach – Part I: effect of the type of sugar. *Food Chemistry* 2009; 114: 116–126.
42. Tareke E, Rydberg P, Karlsson P, Eriksson S, Tornqvist M. Analysis of acrylamide, a carcinogen formed in heated foodstuffs. *J Agric Food Chem* 2002.; 50: 4998–5006.
43. Cutie SS, Kallos GJ. Determination of acrylamide in sugar by thermospray liquid chromatography/mass spectrometry. *Anal Chem* 1986; 58:2425-2428.
44. EPA. Preliminary Assessment of Health Risks from Exposure to Acrylamide; Office of Toxic Substances, U.S. Environmental Protection Agency: Washington, DC, 1988.
45. IARC. Some Industrial Chemicals; International Agency for Research on Cancer: Lyon, France, 1994
46. Pantusa VP, Stock TH, Morandi MT, Harrist RB, Afshar M. Inhalation exposures to acrylamide in biomedical laboratories. *Aihaj* 2002; 63: 468-473)
47. Petersen B. Exposure and biomarkers. JIFSAN/NCFST Acrylamide in Food Workshop. [http://www.jifsan.umd.edu/Acrylamide/acrylamide workshop.html](http://www.jifsan.umd.edu/Acrylamide/acrylamide%20workshop.html), 2002.
48. WH. Organization, FAO/WHO consultation on the health implications of acrylamide in food. Summary report of a meeting held in Geneva, 25–27 June 2002.
49. Katen AL, Roman SD. The genetic consequences of paternal acrylamide exposure and potential for ameliorat ion. *Mutat Res.* 2015; 777: 91-100.
50. NTP Toxicology and Carcinogenesis Studies of NMethylolacrylamide (CAS No. 924-42-5) in F344/N Rats and B6C3F1 Mice (Gavage Studies). *Natl. Toxicol. Program Tech Rep Ser* 1989; 352: 1-204.
51. Bull, R. J.; Robinson, M.; Laurie, R. D.; Stoner, G. D.; Greisiger, E.; Meier, J. R. J.; Stober, J. Carcinogenic effects of acrylamide in Sencar and A/J mice. *Cancer Res.* 1984, 44, 107-111
52. Pelucchi C, Bosetti C, Galeone C and Vecchia CL. Dietary acrylamide and cancer risk: An updated meta-analysis. *Int J Cancer* 2015; 136: 2912-2922.
53. Friedman M, Rayburn JR, Bantle JA. Developmental toxicology of potato alkaloids in the frog embryo teratogenesis assay-Xenopus (FETAX). *Food Chem Toxicol* 1991; 29: 537-547.
54. Friedman M, Burns CF, Butchko CA, Blankemeyer JT. Folic acid protects against potato glycoalkaloid R-chaconine-induced disruption of frog embryo cell membranes and developmental toxicity. *J Agric Food Chem* 1997; 45: 3990-3994.
55. Friedman M, Henika PR, Mackey BE. Effect of feeding solanidine, solasodine and tomatidine to non-pregnant and pregnant mice. *Food Chem. Toxicol* 2003; 41: 61-71.

56. Katen AL, Roman SD. The genetic consequences of paternal acrylamide exposure and potential for amelioration. *Mut Res* 2015;777:91-100.
57. Higashikuni N, Hara M, Nakagawa S, Sutou S. 2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl) acrylamide (AF-2) is a weak in vivo clastogenas revealed by the micronucleus assay. *Mut Res* 1994; 320:149–56.
58. Friedman MA, Dulak LH, Stedham MA. A lifetime oncogenicity study in rats with acrylamide. *Fundam Appl Toxicol* 1995; 27:95–105.
59. Schriever-Schwemmer G, Kliesch U, Adler ID. Extruded micronuclei induced by colchicine or acrylamide contain mostly lagging chromosomes identified in paintbrush smears by minor and major mouse DNA probes. *Mutagenesis* 1997;12:201–207.
60. Bolt HM. Genotoxicity—threshold or not? Introduction of cases of industrial chemicals. *Toxicol Lett* 2003;140/141:43–51.
61. Bousquet JA, Ettner NA possible tertiary structure change induced by acrylamide in the DNA-binding domain of the Tn10- encoded Tet repressor. A fluorescence study. *J Protein Chem* 1996; 15:205-218.
62. Espinosa V, Kettlun AM, Zanocco A, Cardemil E, Valenzuela MA. Differences in nucleotide-binding site of isoapyrases deduced from tryptophan fluorescence. *Phytochemistry* 2003; 63: 7-14.
63. Adler I D, Schmid TE and Baumgartner A. Induction of aneuploidy in male mouse germ cells detected by the sperm-FISH assay. a review of the present data base. *Mutation research—fundamentals. Mol Mech Mutagen* 2002; 504: 173–182.
64. Miller MS, Spencer PS. The mechanisms of acrylamide axonopathy. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1985; 25: 643- 666.
65. LoPachin RM. The role of fast axonal transport in acrylamide pathophysiology: Mechanism or epiphenomenon? *Neurotoxicology* 2002; 23: 253-257.
66. Sickles DW, Stone JD, Friedman MA. Fast axonal transport: A site of acrylamide neurotoxicity? *Neurotoxicology* 2002; 23: 223-251.
67. Mucci LM, Wilson KM. Acrylamide intake through diet and human cancer risk. *J Agric Food Chem* 2008; 56, 6013–6019.
68. Chapin RE, Fail PA, George JD et al . The reproductive and neural toxicities of acrylamide and three analogues in Swiss mice, evaluated using the continuous breeding protocol. *Fundam Appl Toxicol* 1995; 27: 9-24.
69. Sakamoto J, Hashimoto K. Reproductive toxicity of acrylamide and related compounds in mice effects on fertility and sperm morphology. *Arch Toxicol* 1986; 59: 201-205.
70. Wise LD, Gordon LR, Soper KA, Duchai DM, Morissey RE. Developmental neurotoxicity evaluation of acrylamide in Sprague-Dawley rats. *Neurotoxicol Teratol* 1995; 17: 189-198.
71. Yang H, Lee S, Jin Y, Choi J, Han D, Chae C, Lee M, Han C. Toxicological effects of acrylamide on rat testicular gene expression profile. *Reprod Toxicol* 2005; 19: 527–534.

72. Dearfield KL, Douglas GR, Ehling UH, Moore MM, Sega GA, Brusick DJ. Acrylamide: a review of its genotoxicity and an assessment of heritable genetic risk. *Mutat Res* 1995; 330: 71-99.
73. Becalski A, Lau BPY, Lewis D, Seaman SW. Acrylamide in foods: occurrence, sources, and modeling. *J Agric Food Chem* 2003;51:802-808.
74. Claus A, Schreiter P, Weber A et al. Influence of agronomic factors and extraction rate on the acrylamide contents in yeastleavened breads. *J Agric Food Chem* 2006;54:8968–8976.
75. Mustafa A, Aman P, Andersson R, Kamal-Eldin A. Analysis of free amino acids in cereal products. *Food Chemistry* 2007;105: 317–324.
76. Robert F, Vuataz G, Pollien P et al. Acrylamide formation from asparagine under low-moisture Maillard reaction conditions. 1. Physical and chemical aspects in crystalline model systems. *J Agric Food Chem* 2004;52(22):6837-6842.
77. Elmore JS, Koutsidis G, Dodson AT, Mottram DS, and Wedzicha BL: The effect of cooking on acrylamide and its precursors in potato, wheat and rye. *Adv Exp Med Biol* 2005;561:255–269.
78. Ishihara K, Matsunaga A, Miyoshi T, Nakamura K, Nakayama T, et al. Formation of acrylamide in a processed food model system, and examination of inhibitory conditions. *Shokuhin Eiseigaku Zasshi* 2005; 46:33–39.
79. Lukac H, Amrein TM, Perren R, Conde-Petit B, Amado R, et al.: Influence of roasting conditions on the acrylamide content and the color of roasted almonds. *J Food Sci* 2007;72:C033–C038.
80. Amrein TM, Bachmann S, Noti A, et al. Potential of acrylamide formation, sugars, and free asparagine in potatoes: a comparison of cultivars and farming systems. *J Agric Food Chem* 2003; 51: 5556–5560.
81. Becalski A, Lau BP-Y, Lewis D et al. Acrylamide in French fries: influence of free amino acids and sugars. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2004; 52: 3801–3806.
82. Taeymans D, Wood J, Ashby P, et al. A review of acrylamide: an industry perspective on research, analysis, formation and control. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2004;44:323–347.
83. Claus A, Schreiter P, Weber A, Graeff S, Herrmann W, Claupein W, Schieber A, Carle R. 2006b. Influence of agronomic factors and extraction rate on the acrylamide contents in yeastleavened breads. 54,8968–8976.
84. Curtis TY, Muttucumar N, Shewry PR, Parry MA, Powers SJ, Elmore JS, Mottram DS, Hook S, Halford NG. 2009. Evidence for genetic and environmental effects on free amino acid levels in wheat grain: implications for acrylamide formation during processing. *J Agric Food Chem* 57, 1013–1021.
85. Curtis TY, Powers SJ, Balagiannis et al. Free amino acids and sugars in rye grain: implications for acrylamide formation. *J Agric Food Chem* 2010; 58: 1959–1969.
86. Tareke E, Rydberg P, Karlsson P, Eriksson S, Törnqvist M. Analysis of acrylamide, a carcinogen formed in heated foodstuffs. *J Agric Food Chem* 2002; 50:4998-5006.

87. Mottram DS, Wedzicha BL, Dodson AT. Acrylamide is formed in the Maillard reaction. *Nature*, 2002; 419: 448-449.
88. Granda EC. Kinetics of Acrylamide Formation in Potato Chips. Master Thesis, Texas A&M University, Biological and Agricultural Engineering, ABD 2005;171.
89. Elmore JS, Koutsidis G, Dodsan AT, Mottram DS, Wedzicha BL. Measurement of acrylamide and its precursors in potato, wheat, and rye model systems. *J Agric Food Chem*. 2005; 53:1286-1293.
90. Rydberg P, Eriksson S, Tareke E et al. Investigations of factors that influence the acrylamide content of heated foodstuffs. *J Agric Food Chem*. 2003;51:7012-7018.
91. Jung M, Choi D, Ju J. A novel technique for limitation of acrylamide formation in fried and baked corn chips and in French fries. *Food Chemistry and Toxicology* 2003; 68:1287-1290.
92. Vicklund T, Ostliea H, Lothe O, Knutsen SH, Brathen E, Kita A. Acrylamide in potato crisp-the effect of raw material and processing, *LWT - Food Science and Technology* 2006;39:571-575.
93. Chuda Y, Ono H, Yada H, Ohara-Takada A, Matsuura-Endo C, et al. Effects of physiological changes in potato tubers (*Solanum tuberosum* L.) after low temperature storage on the level of acrylamide formed in potato chips. *Biosci Biotechnol Biochem* 2003;67:1188-1190.
94. Biedermann-Brem S, Noti A, Grob K, Imhof D, Bazzacco D, et al. How much reducing sugar may potatoes contain to avoid excessive acrylamide formation during roasting and baking? *Eur Food Res Technol* 2003;217:369-373.
95. [http://80.251.40.59/veterinary.ankara.edu.tr/fidanci/Ders\\_Notlari/Tablolarla\\_Biyokimya/TB-Vitaminler.pdf](http://80.251.40.59/veterinary.ankara.edu.tr/fidanci/Ders_Notlari/Tablolarla_Biyokimya/TB-Vitaminler.pdf)
96. Pryor WA, Stahl W, Rock CL. Beta carotene: from biochemistry to clinical trials. *Nutr Rev* 2000 Feb; 58(2 pt1): 39-53.
97. Charpentier B, Bernardon J.-M, Eustache J, Millois C, Martin SM, Shroot, B, Synthesis Structure-Affinity Relationships, And Biological Activities of Ligands Binding to Retinoic Acid Receptor Subtypes, *J Med Chem* 1995; 38: 4993-5006.
98. [https://en.wikipedia.org/wiki/Retinoic\\_acid#/media/File:Retinoic\\_acid\\_3D\\_ball.png](https://en.wikipedia.org/wiki/Retinoic_acid#/media/File:Retinoic_acid_3D_ball.png), 28.07.2015.
99. Champe PC. Vitamins. In: Harvey LA, editör. *Lippincott's Illustrated Reviews: Biochemistry*. 4th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 1997. 332-335.
100. Olson JA. Vitamin A, retinoids and carotenoids. In: Shills M, Young V, editors. *Modern Nutrition in Health and Disease*. 7th ed. Philadelphia: Lea & Febiger. 1988. 292-312.
101. Blomhoff R, Green MH, Green JB, Berg T, Norum KR. Vitamin A metabolism: new perspectives on absorption, transport, and storage. *Physiol Rev*. 1991;71:951-990.
102. Olson JA. Serum levels of vitamin A and carotenoids as reflectors of nutritional status. *J Natl Cancer Inst*. 1984; 73: 1439-1444.



103. Blomhoff R, Holte K, Naess L. Newly administered [3H] retinol is transferred from hepatocytes to stellate cells in liver storage. *Exp Cell Res* 1984; 150:186–93.
104. Lanska DJ. Chapter 29: Historical aspects of the major neurological vitamin deficiency disorders: overview and fat-soluble vitamin A. *Handb Clin Neurol* 2009; 95: 435-444.
105. Aksoy M. A vitamini. In: Aksoy M, ed. *Beslenme Biyokimyası*. 2nd ed. Ankara: Hatiboğlu Yayıncılık, 2000:321-42.
106. Raverdeau M, Gely-Pernot A, Féret B et al. Retinoic acid induces Sertoli cell paracrine signals for spermatogonia differentiation but cell autonomously drives spermatocyte meiosis. *Developmental Biology* 2012; 109:41 -16583.
107. Klamt F, Claudio J, Moreira F et al. All-trans retinoic acid induces free radical generation and modulate antioxidant enzyme activities in rat sertoli cells. *Mol Cell Biochem*. 2006; 285: 173–179.
108. Graebner IT, Saito CH, de Souza EM. Biochemical assessment of vitamin A in schoolchildren from a rural community. *J Pediatr* 2007; 83: 247-252.
109. DeLuca LM, Retinoids and their receptors in differentiation, embryogenesis, and neoplasia, *Faseb J* 1991; 5: 2924-2933.
110. DeLuca LM, Darwiche N, Jones CS, Scita, G Retinoids in differentiation and neoplasia, *Sci Am Sci Med* 1995; 2: 28-32.
111. Gudas LJ, Sporn MB, Roberts AB, Cellular Biology and Biochemistry of the retinoids. In: *The Retinoids* (Sporn MB, Roberts AB, Goodman DS ed.), Raven, New York, 1994; 443-520.
112. De Rooij DG, Van Pelt AMM, Van de Kant HJG, Van der Saag PT, Peters AHFM, Heyting C, De Boer P. Role of retinoids in spermatogonial proliferation and differentiation and the meiotic prophase, in A Bartke (ed): “Function of Somatic Cells in the Testis.” New York: Springer-Verlag, pp 1994: 345–361.
113. Van Pelt AMM, Van Dissel-Emiliani FMF, Gaemers IC, Van der Burg MJM, Tanke HJ, De Rooij DG Characteristics of Aspermatogonia and preleptotene spermatocytes in the vitamin A-deficient rat testis. *Biol Reprod* 1995; 53:570–578.
114. Dencker L, D’Arby R, Danielson BRG, Ghantous H, Sperber GO. Saturable accumulation of retinoic acid in neural and neural crest derived cells in early embryonic development. *Dev Pharmacol Ther* 1987; 10:212–23.
115. Durston AJ, Timmermans JPM, Hage WJ, Kendriks HFJ, de Vries NJ, Heideveld M, et al. Retinoic acid causes an anteroposterior transformation in the developing central nervous system. *Nature* 1989; 340:140–4.
116. Wagner M, Thaller C, Jessell T, Eichele G. Polarizing activity and retinoid synthesis in the floor plate of the neural tube. *Nature* 1990; 345:819–22.
117. Wedden SE, Ralphs JR, Tickle C. Pattern formation in the facial primordia. *Development* 1988; 103(Suppl.):31–40.

118. Maden M. Vitamin A and pattern formation in the regenerating limb. *Nature* 1982;295:672–5.
119. Eichele G. Retinoids and vertebrate limb pattern formation. *Trends Genet* 1989;5:246–51.
120. Clagett-Dame M, DeLuca HF. The role of vitamin A in mammalian reproduction and embryonic development. *Annu Rev Nutr* 2002;22:347–81.
121. Clagett-Dame M, Knutson D. Vitamin A in reproduction and development. *Nutrients* 2011;3:385–428.
122. Vernet N, Dennefeld C, Rochette-Egly C, Oulad-Abdelghani M, Chambon P, Ghyselinck NB, et al. Retinoic acid metabolism and signaling pathways in the adult and developing mouse testis. *Endocrinology* 2006;147:96–110.
123. Ghyselinck NB, Vernet N, Dennefeld C, Giese N, Nau H, Chambon P, et al. Retinoids and spermatogenesis: lessons from mutant mice lacking the plasma retinol binding protein. *Dev Dyn* 2006;235:1608–22.
124. Zhai Y, Sperkova Z, Napoli JL. Cellular expression of retinal dehydrogenase types 1 and 2: effects of vitamin A status on testis mRNA. *J Cell Physiol* 2001;186:220–32.
125. Kasimanickam V, Kasimanickam R. Expression of CYP26b1 and related retinoic acid signaling molecules in young, peripubertal and adult dog testis [Epub ahead of print]. *Reprod Dom Anim* 2012. <<http://dx.doi.org/10.1111/j.1439-0531.2012.02125.x>>. [accessed 22.06.2012].
126. Riaz-ul-Haq, Chytil F. Early effects of retinol and retinoic acid on protein synthesis in retinol-deficient rat testes. *Biochem Biophys Res Commun* 1988; 151: 53–60.
127. Blaner WS, Mendelsohn CL. Retinoid activation: Survival factor for male germ cells. *Endocrinology* 2007; 148: 4557–4559.
128. Van Pelt AM, de Rooij DG. Synchronization of the seminiferous epithelium after vitamin A replacement in vitamin A-deficient mice. *Biol Reprod* 1990; 43: 363–367.
129. Gaemers IC, Van Pelt AM, De Rooij DG. All-trans-4-oxo-retinoic acid: A potent inducer of in vivo proliferation of growth arrested A spermatogonia in the vitamin A-deficient mouse testis. *Endocrinology* 1996; 1996: 479–485.
130. De Gendt K, Verhoeven G. Tissue- and cell-specific functions of the androgen receptor revealed through conditional knockout models in mice. *Mol. Cell. Endocrinol* 2012; 352: 13–25.
131. Sharpe RM, McKinnell, C, Kivlin C, Fisher JS, Proliferation and functional maturation of Sertoli cells, and their relevance to disorders of testis function in adulthood. *Reproduction* 2003; 125: 769–784.
132. Tarulli GA, Stanton PG, Meachem SJ. Is the adult Sertoli cell terminally differentiated? *Biol. Reprod* 2012;87: 1–11.
133. Altucci L, Gronemeyer H. The promise of retinoids to fight against cancer. *Nat Rev Cancer*. 2001;1:181–193.

134. Burton GW, Ingold KU. beta-Carotene: an unusual type of lipid antioxidant. *Science* 1984; 224: 569–573.
135. Maden M, Gale E, Kostetskii I, Zile M. Vitamin A deficient quail embryos have a half hind brain and other neural defects, *Curr Biol* 1996; 6: 417-426.
136. Thompson JN, Howell JM, Pitt GAJ, McLaughlin CI. The biological activity of retinoic acid in the domestic fowl and the effects of vitamin A deficiency on the chick embryo, *Br J Nutr* 1969; 23: 471-490.
137. Wellik DM, Deluca HF. Retinol in addition to retinoic acid is required for successful gestation in vitamin A deficient rats, *Biol Reprod* 1995; 53: 1392-1397.
138. Nau H, Chahoud I, Dencker L, Lammer EJ, Scott WJ. Teratogenicity of vitamin A and retinoids. In: *Vitamin A in Health and Disease* (Blomhoff R. ed.), Dekker, New York, 1994; 615-663.
139. Gerardo RV. Galectins as pattern recognition receptors: structure, function, and evolution. *Adv Exp Med Biol* 2012; 946: 21-36.
140. Rossi ED, Raffaelli M, Minimo C, et al. Immunocytochemical evaluation of thyroid neoplasms on thin-layered smears from fine-needle aspiration biopsies. *Cancer* 2005; 105(2): 87-95.
141. Hughes RC. Galectins as modulators of cell adhesion. *Biochimie* 83; 2001:667–676.
142. Rabinovich GA, Riera CM, Landa CA, et al. Galectins: a key interface between glycobiology and immunology. *Braz J Med Biol Res* 32; 1999: 383–393.
143. Rabinovich GA, Baum LG, Tinari N, et al. Galectins and their ligands: amplifiers, silencers or tuners of the inflammatory response? *Trends Immunol* 23; 2002: 313–320.
144. Liu FT, Patterson RJ and Wang JL. Intracellular functions of galectins. *Biochim Biophys Acta* 1572 ; 2002: 263–273.
145. Perillo NL, Marcus ME and Baum LG. Galectins: versatile modulators of cell adhesion, cell proliferation, and cell death. *J Mol Med* 76; 1998: 402–412.
146. Wada J and Makino H. Galectins, galactoside-binding mammalian lectins: clinical application of multi-functional proteins. *Acta Med. Okayama* 55; 2001: 11–17.
147. Danguy A, Camby I and Kiss R. Galectins and cancer. *Biochim Biophys Acta* 2002; 1572 : 285–293.
148. Hirabayashi J and Kasai K. The family of metazoan metal-independent beta-galactoside-binding lectins: structure, function and molecular evolution. *Glycobiology* 1993; 4: 297-304.
149. Tasumi, S. and Vasta, G.R. A galectin of unique domain organization from hemocytes of the Eastern oyster (*Crassostrea virginica*) is a receptor for the protistan parasite *Perkinsus marinus*. *J Immunol* 2007; 179(5):3086-98.
150. Hernandez JD, Baum LG. Ah, sweet mystery of death! Galectins and control of cell fate. *Glycobiology* 2002; 10: 127R-36R.

151. Barondes SH, Cooper DNW, Gitt IMAend et al. GalectinsStructureandfunction of a largefamily of animallectins. *J BiolChem* 1994; 269: 20807–20810.
152. Cooper DNW. Galectinomics: findingthemes in complexity. *BiochimBiophysActa* 2002; 1572(2-3):209-31
153. Dumic J, Dabelic S, Flogel M. Galectin-3: an open-ended story. *Biochim Biophys Acta.* 2006; 1760: 616–35.
154. Krześlak A, Lipińska A.Galectin-3 as a multifunctional protein. *Cell Mol Biol Lett.* 2004; 9(2): 305-28.
155. Vasta GR. Galectins as pattern recognition receptors: structure, function, and evolution. *Adv Exp Med Biol.* 2012; 946: 21-36.
156. Sano H , Yamanaka T,Yu L and et al.Human Galectin-3 Is a Novel Chemoattractant for Monocytes and Macrophages. *J Immunol* 2015; 165: 2156-2164.
157. [https://en.wikipedia.org/wiki/Galectin-3#/media/File:Protein\\_LGALS3\\_PDB\\_1a3k.png](https://en.wikipedia.org/wiki/Galectin-3#/media/File:Protein_LGALS3_PDB_1a3k.png), 28.07.2015.
158. Moutsatsos IK, Wade M, Schindler M and et al. Endogenous lectins from cultured cells: nuclear localization of carbohydrate-binding protein 35 in proliferating 3T3 fibroblasts. *Proc. Natl. Acad. Sci USA* 1987; 84: 6452–6456.
159. Gately S, Twardowsky P, Stack MS and et al . Human prostate carcinoma cells express enzymatic activity that converts human plasminogen to the angiogenesis inhibitor, angiostatin. *Cancer Res* 1996; 56: 4887–4990.
160. Lotan R, Ito H, Yasui W and at al .Yokozaki H, Lotan D, Tahara E: Expression of a 31 kDa lactose-binding lectin in normal human gastric mucosa and in primary and metastatic gastric carcinomas. *Int J Cancer* 1994; 56:474–480.
161. Shoepfner HL, Raz A, Ho SB, Bresalier R: Expression of an endogenous galactoside-binding lectin correlates with neoplastic progression in the colon. *Cancer* 1995; 75: 2818–2826.
162. Xu C, El-Nagger A, Lotan R. Differential expression of galectin-1 and galectin-3 in thyroid tumors: potential diagnostic implications. *Am J Pathol* 1995; 147:815–822.
163. Nangia-Makker P, Thompson EW, Hogan C and et al. Induction of tumorigenicity by gal-3 in a non-tumorigenic human breast carcinoma cell line. *Int J Oncol* 1995; 7:1079–1087.
164. Gillen water A, Xu C, El-Nagger AK and et al. Expression of galectins in head and neck squamous cell carcinoma. *Head Neck* 1990; 18:422–432.
165. Fernandez PL, Merino MJ, Gomez M and et al. Galectin-3 and laminin expression in neoplastic and non-neoplastic thyroid tissue. *J Pathol* 1997; 181:80–86.
166. Bresalier RS, Mazurek N, Sternberg LR and et al. Metastasis of human colon cancer is altered by modifying expression of the b galactoside-binding protein galectin-3. *Gastroenterology* 1998; 115: 287–296.
167. Nangia-Makker P, Sarvis R, Visscher DW and et al. Galectin-3 and L1 retrotransposons in human breast carcinomas. *Breast Cancer Res Treat* 1998; 49: 171–183.

168. Berberat PO, Friess H, Wang L et al. Comparative analysis of galectins in primary tumors and tumor metastasis in human pancreatic cancer. *Histochem Cytochem* 2001; 49:539-549.
169. Lotz MM, Andrews CW, Korzelius CA et al. Decreased expression of Mac-2 (carbohydrate binding protein 35) and loss of its nuclear localization are associated with the neoplastic progression of colon carcinoma. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90:3466–3470.
170. Song YK, Billiar TR, Lee YJ. Role of galectin-3 in breast cancer metastasis: involvement of nitric oxide. *Am J Pathol* 2002; 160:1069-1075.
171. Hughes RC. The galectin family of mammalian carbohydrate- binding . *Biochem Soc Trans.* 1997; 25(4): 1194-1198.
172. Hesse M, Modolell M, La Flamme AC et al. Differential regulation of nitric oxide synthase-2 and arginase-1 by type 1/type 2 cytokines in vivo: granulomatous pathology is shaped by the pattern of L-arginine metabolism. *J Immunol* 2001; 167(11): 6533-654.
173. Grasmann H, Schwiertz R, Matthiesen S, Racke K, Ratjen F. Increased arginase activity in cystic fibrosis airways. *Am J Respir Crit Care Med* 2005; 172(12): 1523- 1528.
174. Flotte TJ, Springer TA, and Thorbecke GJ. Dendritic cell and macrophage staining by monoclonal antibodies in tissue sections and epidermal sheets. *Am J Pathol* 1983;111:112.
175. Vasta GR. Galectins as pattern recognition receptors: structure, function, and evolution. *Adv Exp Med Biol.* 2012; 946: 21-36.
176. Barondes SH, Cooper DNW, Gitt MA, Leffler H: Galectins, structure, and function of a large family of animal lectins. *J Biol Chem* 1994, 269: 20807–20819.
177. Davidson PJ, Davis MJ, Patterson RJ and et al. Shuttling of galectin-3 between the nucleus and cytoplasm. *Glycobiology* 2002; 12: 329–327.
178. Yu F, Finley RL, Raz A and et al. Galectin-3 translocates to the perinuclear membranes and inhibits cytochrome c release from the mitochondria. A role for synexin in galectin-3 translocation. *Biol Chem* 2002; 277: 15819– 15827.
179. Yang RY, Hsu DK, Liu FT. Expression of galectin-3 modulates T-cell growth and apoptosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93:6737–6742.
180. Jones JL, Saraswati S, Block AS and et al. Galectin-3 is associated with prostasomes in human semen. *Glycoconj J* 2010; (2):227-36.
181. Wollina U, Schreiber G, Gornig M and et al. Sertoli cell expression of galectin-1 and -3 and accessible binding sites in normal human testis and Sertoli cell only syndrome. *Histol Histopathol.* 1999; 14: 779–84.
182. Kim H, Ahn M, Moon C and et al. Immunohistochemical study of galectin-3 in mature and immature bull testis and epididymis. *J Vet Sci.* 200; 4:339-44.
183. Ellerhorst J, Troncoso P, Xu XC, Lee J, Lotan R. Galectin-1 and galectin-3 expression in human prostate tissue and prostate cancer. *Urol Res* 1999; 27: 362–7.
184. Deschildre C, Ji JW, Chater S, Dacheux F, Selva J, Albert M, et al. Expression of galectin-3 and its regulation in the testes. *Int J Androl* 2007; 30:28-40.

185. Kim H, Kang TY, Joo HG and et al . Immunohistochemical localization of galectin-3 in boar testis and epididymis. *Acta Histochem* 2006; 108:481-485.
186. Tareke E, Rydberg P, Karlsson P, Eriksson S, and Tornqvist M. Acrylamide: a cooking carcinogen? *Chem Res Toxicol* 2000; 13: 517–522.
187. Tareke E, Rydberg P, Karlsson P, Eriksson S, and Tornqvist M. Analysis of acrylamide, a carcinogen formed in heated foodstuffs. *J Agric Food Chem* 2002; 50: 4998–5006.
188. Halford NG1, Curtis TY, Muttucumar N et al. The acrylamide problem: a plant and agronomic science issue. *J Exp Bot* 2012;63(8):2841-51.
189. Friedman M. Acrylamide: inhibition of formation in processed food and mitigation of toxicity in cells, animals, and humans. *Food Funct* 2015;jun6(6):1752-72.
190. Chen W, Shen Y, Su H, Zheng X. Hispidin derived from *Phellinus linteus* affords protection against acrylamide-induced oxidative stress in Caco-2 cells. *Chem Biol Interact* 2014;219:83-90.
191. Burek JD, Albee RR, Beyer JE, Bell TJ, Carreon RM, Morden DC, et al. Subchronic toxicity of acrylamide administered to rats in the drinking water followed by up to 144 days of recovery. *J Environ Pathol Toxicol* 1980;4:157–82.
192. Friedman MA, Dulak LH, Stedham MA. A lifetime oncogenicity study in rats with acrylamide. *Fundam Appl Toxicol* 1995;27:95–105.
193. Beland FA, Mellick PW, Olson GR et al. Carcinogenicity of acrylamide in B6C3F(1) mice and F344/N rats from a 2-year drinking water exposure. *Food Chem Toxicol.* 2013; 51:149-59.
194. Maronpot RR, Thoolenb RJMM, Hansenc B. Two-year carcinogenicity study of acrylamide in Wistar Han rats within utero exposure. *Experimental and Toxicologic Pathology* 2015; 67 :189–195.
195. Calleman C, J Bergmark, E Costa, LG. Acrylamide is metabolized to glycidamide in the rat: evidence from hemoglobin adduct formation. *Chem Res Toxicol* 1990; 3: 406-412.
196. Costa LG. Biomarker research in neurotoxicology: the role of mechanistic studies to bridge the gap between the laboratory and epidemiological investigations. *Environ. Health Perspect* 1996; 104: 55-67.
197. Fox PF, Nash BM, Horan TJ, O'Brien J, Morrissey PA. Effect of selected amides on heat-induced changes in milk. *J Dairy Sci* 1980; 47: 211-219.
198. Fennell TR, Snyder RW, Krol WL, Sumner SC. Comparison of the hemoglobin adducts formed by administration of N-methylacrylamide to rats. *Toxicol Sci* 2003; 71: 164-175.
199. He FS, Zhang SL, Wang HL et al. Neurological and electroneuromyographic assessment of the adverse effects of acrylamide on occupationally exposed workers. *Scand. J. Work Environ. Health* 1989; 15: 125-129.
200. Miller MS, Spencer PS. The mechanisms of acrylamide axonopathy. *Annu Rev Pharmacol. Toxicol* 1985; 25: 643- 666.

201. Dearfield KL, Douglas GR, Ehling UH, Moore MM, Segal GA, Brusick DJ. Acrylamide: a review of its genotoxicity and an assessment of heritable genetic risk. *Mutat. Res* 1995;330:71–99.
202. Yang HJ, Lee SH, Jin Y, Choi JH, Han DU, Chae C, Lee MH, Han CH. Genotoxicity and toxicological effects of acrylamide on reproductive system in male rats. *J Vet Sci* 2005a; 6: 103–109.
203. Yang HJ, Lee SH, Jin Y, Choi JH, Han DU, Chae C, Han CH, Lee MH. Toxicological effects of acrylamide on rat testicular gene expression profile. *Reprod Toxicol.* 2005b; 19: 527–534.
204. Ayuob NN, Murad HAS, Ali SS. Impaired expression of sex hormone receptors in male reproductive organs of diabetic rat in response to oral antidiabetic drugs. *Folia Histochem Cytobiol* 2015; 53(1): 35-48.
205. Tyl RW, Friedman MA. Effects of acrylamide on rodent reproductive performance. *Reprod Toxicol* 2003; 17: 1–13.
206. L. Camacho, J.R. Latendresse, L. Muskhelishvili et al. Effects of acrylamide exposure on serum hormones, gene expression, cell proliferation, and histopathology in male reproductive tissues of Fischer 344 rats. *Toxicology Letters* 2012; 211: 135– 143.
207. Sakamoto J and Hashimoto K. Reproductive toxicity of ACR and related compounds in mice: effects on fertility and sperm morphology. *Arch Toxicol* 1986; 59: 201–205.
208. Wanga H, Huang P, Lie T et al. Reproductive toxicity of acrylamide-treated male rats. *Reproductive Toxicology* 2010; 29 : 225–230.
209. Yassa HA, George SM, Refaiy Ael R, Moneim EM. Camellia sinensis (green tea) extract attenuate acrylamide induced testicular damage in albino rats. *Environ Toxicol* 2014; 29(10):1155-61.
210. Zhang X, Chen F, Huang Z. Apoptosis induced by acrylamide is suppressed in a 21.5% fat diet through caspase-3-independent pathway in mice testis. *Toxicol Mech Methods* 2009; 19(3): 219-24.
211. Gassner P, Adler I. Induction of hypoploidy and cell cycle delay by acrylamide in somatic and germinal cells of male mice. *Mutat Res* 1996; 367: 195–202.
212. Ellinger S, Müller N, Stehle P, Ulrich-Merzenich G. Consumption of green tea or green tea products: Is there an evidence for antioxidant effects from controlled interventional studies? *Phyto medicine* 2011; 18: 903–915.
213. Zhao M, Liu X, Luo Y et al. Evaluation of protective effect of freeze-dried strawberry, grape, and blueberry powder on acrylamide toxicity in mice. *J Food Sci* 2015; 80(4): 869-74.
214. Ghanayem BI, Bai I, Kissling GE, Travlos G, and Hoffer U. Diet-Induced Obesity in Male Mice Is Associated with Reduced Fertility and Potentiation of Acrylamide-Induced *Reprod Toxicol* 2010; 82: 96–104.

215. Yang HJ, Lee SH, Choi JH, Han DU, Chae C, Lee MH, et al. Toxicological effects of acrylamide on rat testicular gene expression profile. *Reprod Toxicol* 2005;19:527–34.
216. Takahashi M, Inoue K, Koyama N. Life stage-related differences in susceptibility to acrylamide-induced neural and testicular toxicity. *Arch Toxicol* 2011; 85: 1109–1120.
217. SM Hamdy, HM Bakeer, EF Eskander, and ON Sayed. Effect of acrylamide on some hormones and endocrine tissues in male rats. *Hum Exp Toxicol* 2012 31: 483.
218. Takami S, Imai T, Cho YM et al. Juvenile rats do not exhibit elevated sensitivity to acrylamide toxicity after oral administration for 12 weeks. *J Appl Toxicol* 2012; 32(12): 959-67.
219. Freemantle SJ, Spinella MJ, Dmitrovsky E. Retinoids in cancer therapy and chemoprevention: promise meets resistance. *Oncogene* 2003; 22: 7305-15.
220. Bastien J, Rochette-Egly C. Nuclear retinoid receptors and the transcription of retinoid-target genes. *Gene* 2004; 328:1-16.
221. Mark M, Teletin M, Vernet N, Norbert B, Ghyselinck NB, Role of retinoic acid receptor (RAR) signaling in post-natal male germ cell differentiation *Biochimica et Biophysica Acta* 2015; 1849: 84–93.
222. Tarulli GA, Stanton PG, Meachem SJ. Is the adult Sertoli cell terminally differentiated? *Biol Reprod* 2012; 87:1–11.
223. De Gendt K, Verhoeven G . Tissue- and cell-specific functions of the androgen receptor revealed through conditional knockout models in mice. *Mol Cell Endocrinol* 2012;352: 1325.
224. Hogarth CA, Amory JK, Griswold MD. Inhibiting vitamin A metabolism as an approach to male contraception. *Trends Endoc Metab* 2011; 22: 136–144.
225. Mitranond V, Sobhon P, Tosukhowong P, Chindaduangrat W. Cytological changes in the testis of vitamin A-deficient rats: I.Quantitation of germinal cells in the seminiferous epithelium tubules. *Acta Anat* 1979; 103:159–168.
226. Dumic J, Dabelic S, Flogel M. Galectin-3: an open-ended story. *Biochim Biophys Acta*. 2006; 1760:616–35.
227. Rabinovich GA, Toscano MA. Turning ‘sweet’ on immunity: galectin-glycan interactions in immune tolerance and inflammation. *Nat Rev Immunol*. 2009; 9:338–52.
228. Vasta GR. Roles of galectins in infection. *Nat Rev Microbiol*. 2009; 7:424–38.
229. Jones JL, Saraswati S, Block AS, Lichti CF, Mahadevan M, Diekman AB. Galectin-3 is associated with prostasomes in human semen. *Glycoconj J*. 2010 Feb;27(2):227-36.
230. Panjwani N. Role of galectins in re-epithelialization of wounds. *Ann Transl Med*. 2014 Sep;2(9):89.
231. Helming L, Gordon S. Macrophage fusion induced by IL-4 alternative activation is a multistage process involving multiple target molecules. *Eur J Immunol*. 2007; 37(1): 33-42



- 232.** Haddad Kashani H, Moshkdanian G, Atlasi MA T et al. Expression of galectin-3 as a testis inflammatory marker in vasectomised mice. *Cell J.*2013;15(1):11-8.

## **8. ÖZGEÇMİŞ**

12.04.1989 yılında Maden/Elazığ'da doğdum. İlk, orta ve lise eğitimimi Sivrice/Elazığ'da tamamladım. Daha sonra Fırat Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümünü kazanarak yükseköğretime başladım. 2012 yılında mezun oldum. 2012 yılında Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıp Programı Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisans eğitimime başladım.