

T.C.  
MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ (VET) ANABİLİM DALI



**SAĞLIKLI VE KADMIYUM UYGULANAN RATLARDA  
THERANEKRONUN TESTİS DOKUSU ÜZERİNE ETKİSİ**

YÜKSEKLİSANS TEZİ  
Erdal ALADAĞ

**Danışman**

Doç. Dr. Yeşim AKAYDIN BOZKURT

**HATAY-2016**

T.C.  
MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ (VET) ANABİLİM DALI

**SAĞLIKLI VE KADMIYUM UYGULANAN RATLARDA  
THERANEKRONUN TESTİS DOKUSU ÜZERİNE ETKİSİ**

YÜKSEKLİSANS TEZİ  
Erdal ALADAĞ

**Danışman**

Doç. Dr. Yeşim AKAYDIN BOZKURT

Bu tez, Mustafa Kemal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından  
12202 numaralı proje olarak desteklenmiştir.

**HATAY-2016**

T.C.  
MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ (VET) ANABİLİM DALI

**SAĞLIKLI VE KADMİYUM UYGULANAN RATLARDA  
THERANEKRONUN TESTİS DOKUSU ÜZERİNE ETKİSİ**

Yüksek Lisans Tezi  
Erdal ALADAĞ

Bu tez aşağıda isimleri yazılı tez jürisi tarafından 02/06/2016 günü sözlü yapılan  
tez savunma sınavında oybirliği ile kabul edilmiştir.

**Tez Jürisi:** Jüri Başkanı: Prof. Dr. Ahmet KOÇ

Üye: Doç. Dr. Yeşim AKAYDIN BOZKURT

Üye: Doç. Dr. Tolunay KOZLU

Bu tez, Enstitümüz Histoloji ve Embriyoloji (VET) Anabilim Dalı'nda hazırlanmıştır.

/ /2016

Doç. Dr. Yaşar ERGÜN  
Enstitü Müdürü

## TEŞEKKÜR

Bu tezin gerçekleŐmesinde emeği geçen danışman hocam Doç. Dr. Yeşim AKAYDIN BOZKURT'a, laboratuvar çalıŐmalarımı titizlikle takip ederek yardımını esirgemeyen Doç. Dr. Tolunay KOZLU, Yrd. Doç. Dr. Pınar PEKER AKALIN, Yrd. Doç. Dr. Hasan YILDIZ ve AraŐ. Gör. Dr. Feyza BAŐAK'a, beni yetiŐtirip bu günlere getiren annem Delal ALADAĞ ve babam Cihad ALADAĞ'a, son olarak desteğini her zaman hissettiğim abim Engin ALADAĞ, yengem Esin Nur ALADAĞ ve ablam Nilay ALADAĞ'a teşekkür ederim.



# İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay.....	II
TEŞEKKÜR.....	III
İÇİNDEKİLER.....	IV
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VI
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	VIII
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	IX
ÖZET.....	X
ABSTRACT.....	XI
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Erkek Genital Sistemi'nin Embriyolojik Gelişimi.....	3
2.2. Erkek Genital Sistemi'nin Anatomisi.....	4
2.3. Erkek Genital Sistemi'nin Histolojisi.....	5
2.3.1. Testisin Histolojik Yapısı.....	5
2.3.2. Rete Testis'in ve Epididimis'in Histolojik Yapısı.....	9
2.4. Ratlarda Spermatozoon'un Mikroskopik Muaynesi.....	10
2.4.1. Spermatozoon Yoğunluğunun Belirlenmesi.....	10
2.4.2. Spermatozoon'un Morfolojik Muaynesi.....	11
2.5. Kadmiyum'un Rat Genital Sistemi Üzerine Etkileri.....	12
2.6. Theranekron'un Dokular Üzerine Etkisi ve Tedavi Amaçlı Kullanım Alanları.....	13
3. GEREÇ ve YÖNTEM.....	15
3.1. Grupların Oluşturulması.....	15
3.2. Biyokimyasal Analiz Metodu.....	16
3.3. Spermanın Mikroskopik Muaynesi İçin Uygulanan Prosödür.....	16
3.4. Dokulara Uygulanan Histolojik Prosödür.....	17
3.5. İstatistiksel Analizler.....	17
4. BULGULAR.....	18
4.1. Makroskopik Bulgular.....	18

4.2. Biyokimyasal Bulgular.....	18
4.3. Sperm Yoğunluğu ve Morfolojisi İle İlgili Bulgular.....	19
4.4. Histolojik ve Histopatolojik Bulgular.....	24
5. TARTIŞMA.....	38
6. SONUÇ.....	43
7. KAYNAKLAR.....	44
ÖZGEÇMİŞ.....	47



## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 4.1. Normal morfolojik yapıya sahip spermatozoon görünümü. Eosin B.....	21
Şekil 4.2. Baş anomalili (*) spermatozoon (Kadmiyum 24 saat grubuna ait). Eosin B.....	21
Şekil 4.3. Smear örneğinde distal sitoplazmik damlacık (ok başı) ve kuyruk anomalisi (ok) gözlenen spermatozoonlar (Kadmiyum 6 gün grubuna ait). Eosin B.....	22
Şekil 4.4. Distal sitoplazmik damlacık (ok başları) anomalili spermatozoonlar (Kadmiyum + Theranekron grubuna ait smear örneğinden). Eosin B.....	22
Şekil 4.5. Distal sitoplazmik damlacık (oklar) anomalili spermatozoonlar (Theranekron grubuna ait smear örneğinden). Eosin B.....	23
Şekil 4.6. Grup 1'e ait rat testis dokusunun histolojik görünümü. lh: Leydig hücresi, st: seminifer tubul. Triple.....	25
Şekil 4.7. Grup 1'e ait rat testis dokusunda seminifer tubul'ün histolojik görünümü. ps: primer spermatosit, s: spermatid, ss: sekonder spermatosit, st: Sertoli hücresi, ok: spermatogonyum. Triple.....	26
Şekil 4.8. Duktulus efferentis'lerin Grup 1'de görünümü. Triple.....	26
Şekil 4.9. Grup 1'de duktus epididimidis'in görünümü. Triple.....	27
Şekil 4.10. Grup 1'de Duktus deferens'in genel görünümü. Triple.....	27
Şekil 4.11. Grup 2'de rat testisinde bazal membranlarından ayrılan seminifer tubuller (ok başı), interstisyel bağdokusunda yaygın düzeyde hemoraji (h), hiperemi (*). Triple.....	28
Şekil 4.12. Grup 2'de rat testisinde bazal membranlarından ayrılan seminifer tubuller (ok başı), interstisyel bağdokusunda yaygın düzeyde hemoraji (h), hiperemi (*). Triple.....	28
Şekil 4.13. Grup 2'de epididimal kanallarda yapısal bozulma ve hemoraji. Triple.....	29
Şekil 4.14. Grup 2'de rat epididimisinde duktulus efferentis'lerin epitel katmanında bozulma (ok başı), hemoraji (*). Triple.....	29
Şekil 4.15. Grup 2'de duktus deferensin görünümü. Ok başı: piknotik çekirdek, yıldızlar: spermatidler. Triple.....	30
Şekil 4.16. Grup 3'e ait testis dokusunda yapısal bütünlüğünü tamamen kaybeden (ok başı) seminifer tubuller (st), interstisyel bağdokuda hemoraji, h: hiperemi. Triple.....	30

Şekil 4.17. Grup 3'e ait testis dokusunda seminifer tubulün (st) ve interstisyel bağ dokunun (ib) yakın görünümü. h: hemoraji, *: hiperemi. Triple.....	31
Şekil 4.18. Grup 3'te rat epididimisinde duktulus efferentis'lerin görünümü. Anaplazik yapı (*). Triple.....	31
Şekil 4.19. Grup 3'te duktus deferensin görünümü. ok başı: piknotik çekirdek, *: epitel hücrelerinde hipertrofi. Triple.....	32
Şekil 4.20. Grup 4'e ait testis dokusunun görünümü. Tunika albuginea'da (ta) kalınlaşma, damarlarda genişleme ve hiperemi (h), interstisyel bağdokusunda (ib) bozulmalar ve displazik yapılar görüldü. st: nekroze olmuş seminifer tubuller. Triple.....	32
Şekil 4.21. Grup 4'e ait testis dokusunda seminifer tubulün (st) ve interstisyel bağ dokunun (ib) yakın görünümü.h: hiperemi. Triple.....	33
Şekil 4.22. Grup 4'e ait testis dokusunda seminifer tubulün (*) yakın görünümü. ib: interstisyel bağdoku, ok başı: bazal membranından ayrılan seminifer tubul. Triple.....	33
Şekil 4.23. Grup 4'e aitepididimiste kanallar arasında tümörüksü yapı (*). Triple.....	34
Şekil 4.24. Grup 4'e ait epididimal kanallarda bazı epitel hücrelerinde hipertrofi ve piknotik çekirdekli hücreler (ok başı), kanal içerisinde çok sayıda olgunlaşmamış eşey hücreleri (*). Triple.....	34
Şekil 4.25. Grup 4'e ait Duktus deferens'e yakın duktus epididimis'lerin histolojik görünümü. ok başı: epitel katmanda hücreler arasında bozulmalar. Triple.....	35
Şekil 4.26. Grup 4'e ait duktus deferens'e ait görüntü. ok: epitel katman ile bazal membran arasında ayrılmalar. Triple.....	35
Şekil 4.27. Grup 5'e ait rat testis dokusunun histolojik görünümü. lh: Leydig hücresi, st: seminifer tubul. Triple.....	36
Şekil 4.28. Grup 5'e ait rat testis dokusunda seminifer tubul'ün histolojik görünümü. ps: primer spermatosit, s: spermatid, ss: sekonder spermatosit, st: Sertoli hücresi, ok: spermatogonyum. Triple.....	36
Şekil 4.29. Grup 5'te duktus epididimidis'in görünümü. Triple.....	37
Şekil 4.30. Grup 5'te Duktus deferens'in genel görünümü. Triple.....	37



## ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 4.1. Kan Serumunda Nitrate/Nitrite Colorimetric Assay Kit ile ve MDA kit ile elde edilen analiz sonuçları.....	18
Çizelge 4.2. Kauda epididimal sperm sayımlarına ait istatistik çizelgesi.....	20
Çizelge 4.3. Sperm anomalilerine ait istatistik çizelgesi.....	23



## SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

ABP: Androjen Bağlayıcı Protein

FSH: Folikül Stimüle Edici Hormon

iNOS: İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentetaz

LH: Luteinleştirici Hormon

MDA: Malondialdehyde

MT: Metallothionein

NO: Nitrik Oksit

sc: Subkutanöz

SE: Standart Hata

## ÖZET

### Sağlıklı ve Kadmiyum Uygulanan Ratlarda Theranekronun Testis Dokusu Üzerine Etkisi

Çalışmada Theranekron'un sağlıklı ve kadmiyum uygulanarak hasar oluşturulmuş rat testislerinde, herhangi bir etkisi olup olmadığı ortaya koyulmaya çalışılmıştır. Theranekronun henüz yeni keşfedilmekte olan rejeneratif özelliklerinden yararlanılmaya çalışılırken aynı zamanda tam bilinmeyen yan etkileri de gözlenmeye çalışılmıştır.

Sağlıklı ve erişkin 40 adet erkek Wistar albino rat 5 gruba ayrıldı. Birincigrup kontrol grubu olarak kullanıldı. İkinci, 3. ve 4. grupta kadmiyum klorür (7 mg/kg) subkutan uygulandı. İkinci gruptaki denekler 24 saat sonra sakrifiye edildi. Üçüncü gruptaki deneklerin 6 gün sonra sakrifikasyonu yapıldı. Dördüncü grupta kadmiyum klorür verildikten 24 saat sonra Theranekron uygulaması (0.3 mg/kg, subkutanöz) yapıldı. Beşinci grupta sadece Theranekron (0.3 mg/kg, subkutanöz) uygulandı. Her iki grupta da 6 gün sonra deneklerin sakrifikasyonu yapıldı. Kan serumunda nitrit, nitrat ve MDA (Malondialdehyde) düzeylerine bakıldı. Deneklerin sperm sayımları ve sperm morfolojileri değerlendirildi. Testis ve epididimisin genel yapısını ortaya koymak amacıyla Crossman'ın modifiye üçlü boyama tekniği kullanıldı. Kadmiyum klorid uygulamasının testis ve epididimiste dejeneratif değişikliklere neden olduğu, Kadmiyum klorid uygulanan deneklerde Theranekron uygulamasının beklenen doku iyileşmesini sağlamadığı gözlemlendi. Tek başına Theranekron uygulamasında ise testis ve epididimisin normal morfolojik yapılarını korudukları saptandı, herhangi bir bozulmaya rastlanmadı. Theranekron'un dozu ve uygulanma biçimi nedeniyle bu sonuçlar elde edilmiş olabileceğinden, değişik doz ve uygulama yolları farklı sonuçlar oluşturabilir. Bu alanda yapılacak başka çalışmalarla daha ayrıntılı sonuçlar elde edilebilir.

**Anahtar kelimeler:** Theranekron, Kadmiyum, testis, rat,

## **ABSTRACT**

### **The Effect of the Theranekron on Healthy and Cadmium Induced Testis of Rats**

In the study, it was tried to find out if Theranekron had effects on healthy and cadmium induced testicles. Exploring regenerative effects of Theranekron, it was also tried to observe the possible side effects of it. Forty Wistar male rats were divided into five groups. 1st Group was used as control group. Cadmium chloride (7 mg/kg) was injected subcutaneously (2nd, 3rd and 4th Groups). Sacrification of the rats in the second group were made after 24 hours from Cadmium chloride administration and in the 3rd group rats were sacrificed 6 days later. After 24 hours from the administration of Cadmium chloride, Theranekron was given (0.3 mg/kg, subcutaneously) in the 4th group. In the 5th group only Theranekron (0.3 mg/kg, subcutaneously ) was given and the rats were sacrificed after 5 days. Nitrite, nitrate and MDA (Malondialdehyde) levels were commentated in the blood serum. Sperm count and sperm morphology of the objects in the group were also evaluated. Crossman's Modified Triple stain was used to show the general structure of the testicles and epididimys. It was put forward that the Cadmium chloride manipulation caused degenerative changes in the testicles and in the epididimydis, and Theranekron administration did not provide expected tissue recovery after the use of Cadmium chloride. The use of Theranekron only by itself did not cause any morphological changes in the question tissues.

These results might be caused by the dosage and administration method of Theranekron, different dosage and administration methods may result different. More detailed results can be obtained by future studies of this field.

**Key words:** Theranekron, cadmium, testis, rat

# 1. GİRİŞ

Testis kadmiyuma karşı oldukça duyarlıdır (Siu ve ark. 2009). Kadmiyum testiste doğrudan hasar oluşturabilir (Boğa 2007, Siu ve ark. 2009). Kadmiyum toksistesinin testikuler doku hasarına, testikuler ağırlık azalmasına, düşük androjen salınımına neden olduğu yapılan çalışmalarda saptanmıştır (Ognjanovic ve ark. 2010, Yari ve ark. 2010). Kadmiyum kaynaklı oksidatif stresin ve inflamasyonun testikuler toksisitesinin patogenezisinde ve disfonksiyonunda önemli rolleri olduğu düşünülmektedir. Oksidatif stresin iNOS (indüklenebilir nitrik oksid sentetaz) aktivasyonuna yol açtığı iyi bilinmektedir (Tuğcu ve ark. 2010, Chen ve ark. 2012). Kadmiyumun süperoksit anyon üretimini uyararak lipid peroksidasyonu (LPO)'na neden olduğu da bilinmektedir (Jamall ve Smith 1985). Çalışmalarda kadmiyuma maruz kalan testislerde, kadmiyum toksisitesiyle ilişkili lipid peroksidasyonun olduğu bildirilmektedir (Farombi ve ark. 2012).

Kadmiyum kan-testis bariyerinde bozulmaya, germ hücrelerinde kayıba, ödem, hemoraji ve nekroze sebep olup, sonuçta infertiliteyle sonuçlanan sağlık problemlerine yol açmaktadır (Siu ve ark. 2009, Çolakoğlu ve ark. 2011). Tek doz subkutanöz (s.c.) kadmiyum klorür enjeksiyonunda (0.68mg/100gr), testikuler arterin ligasyonunu takiben gözlenene benzer şekilde akut iskemik nekrozis oluşur. Yaklaşık 6 saat içinde, kaput epididimis'i de içerecek biçimde, testiste oldukça belirgin ödem ve hemorajik kahverengimsi renk değişikliği gözlenir. 18-24 saat sonra morumsu renk değişikliği ve ödem, genel vakuolleşme, kısmi dekolman ve germinal epitelde yaygın piknoz saptanmıştır (Mason ve ark. 1964). 7mg/kg'lık subkutanöz kadmiyum klorür uygulanan ratlarda, uygulamadan 24 saat sonra belirgin testikuler hemoraji ve ödem gözlendiği bildirilmektedir (El-Ashmawy ve Youssef 1999, Thompson ve Bannigan 2008). Yapılan çalışmalarda, çeşitli ajanların kadmiyum kaynaklı testikuler toksisiteye karşı antioksidan ve antienflamatuar aktiviteleri ile etki gösterdikleri saptanmıştır (Aktaş ve ark. 2012, Fouad ve Jresat 2013, Fouad ve ark. 2013).

Koyu kahverengi, tüylü bir örümcek olan *Tarantula cubensis*'in ısırığının giderek genişleyen kızıl bir areolaya sebep olduğu ve ısırılan yerin çevresinin şiştiği, nekrotik bir lezyona sebep olduğu bildirilmektedir. Hatta deri, fasya ve tendonlarda

dökülmelere neden olduğundan, çocuklarda ölüme neden olabilecek sistemik etkilerin bile gözlenebildiğinden bahsedilmektedir (Hughes ve Dake 1891, Veiga ve ark. 2000, Richardson-Boedler 2002). Homeopatik bir ilaç olan *Tarantula cubensis* ekstraktı, Küba tarantulasının zehirinden elde edilir. Bu ilaç Theranekron® (Richter Pharma, Wels, Avusturya) ticari adı ile piyasada yer almaktadır ve bir süredir veteriner hekimlikte üstün bir başarı ile hizmet vermektedir.

*T. cubensis* ekstraktının etki mekanizması çok iyi tanımlanmamakla birlikte antiflojistik, nekrotizan, demarkatif etkileri ve epitelizasyon yeteneği ile yara iyileşmesi gibi etkileri yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur (Koch ve Stein 1980, Stampa 1986, Sardari ve ark 2007). Theranekronun antiinflamatuvar etki ile daha fazla yangıyı önleyerek doku onarımını sağlıyor olabileceği (Stampa 1986, Sardari ve ark. 2007); tendon iyileşmesinin inflamatuvar süreçlerinin modülasyonunda rol alıyor olabileceği düşünülmektedir (Oryan ve ark. 2012a). Sardari ve ark. (Sardari ve ark. 2011) normal at kanının hematolojik ve biyokimyasal analizini yaptıkları çalışmada, Theranekronun inflamatuvar etkisi olmadığını ileri sürmüşlerdir.

Bu tez çalışmasında, Theranekron'un sağlıklı ve kadmiyum uygulanarak hasar oluşturulmuş rat testislerinde, herhangi bir etkisi olup olmadığı ortaya koyulmaya çalışılmıştır. Theranekronun henüz yeni keşfedilmekte olan rejeneratif özelliklerinden yararlanılmaya çalışılırken aynı zamanda henüz tam bilinmeyen yan etkileri de gözlenmeye çalışılmıştır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Erkek Genital Sistemi'nin Embriyolojik Gelişimi

Testis ve bunların akıtıcı kanalları, bel bölgesindeki intermedier mezodermin ürogenital plağından meydana gelir. Bu bölgedeki sölom epitelinde sağlı-sollu iki kabartı meydana gelir. Crista genialis adını alan bu kabartılar testis ve ovaryumun çatısını oluştururlar (Özer ve ark. 2007, Hassa ve Aştı 2010).

Sulkus primitivus, daha sonra da vitellüs kesesi ve allantois yoluyla göç eden primordial gonositler ön bağırsak duvarında yerleşmiş olan genital çıkıntıya, yani ileride indifferansiye gonadı oluşturacak yapıya yerleşirler (McGeady ve ark. 2011).

Kedi, kobay, fare gibi memelilerde ilk olarak somitogenezin başladığı anda, vitellüs kesesi endodermi ve komşu şiplahnik mezoderimde görülen germ hücrelerinin ön midenin dorsal mezenteriyumuna dorsal yönde ve gonad oluşum sahasına doğru ameboid hareketlerle geldiği, gonadları örten sölom epitelini aktive ederek, en son cinsiyet hücrelerinin oluşmasını sağladığı düşünülmektedir (Özer ve ark. 2007, Hassa ve Aştı 2010). Dejenere olan mezonefroz tüplerindeki bazı mezonefroz hücrelerinin, ileride gonad dokusunu oluşturacakları bölgeye invaze olarak gonad taslağının oluşumunda asıl hücre rolü oynadıkları ileri sürülmüştür. Gonad taslağını oluşturan bazı hücreler sölom epitelinden ve aynı zamanda da alttaki mezenşimden köken alabilir (McGeady ve ark. 2011).

Erkek gonadının gelişmesi, genital kıvrımın medullar bölgesinde gerçekleşir (Özer ve ark. 2007). Genotipik erkeklerde intragonadal rete sisteminin periferindeki mezonefroz hücreleri, içlerinde primordial gonositlerin de olduğu hücre kordonlarını şekillendirir. Seminifer kordonlar olarak bilinen bu kordonlar, at nalı şeklini alır ve gelişen gonadın merkezinde mezonefroz hücreleriyle bunların uzantıları kaynaşır. Seminifer kordonlar kıvrımlı hale gelerek tubulus seminiferus kontortusları şekillendirir (McGeady ve ark. 2011). Kıvrımlı seyreden bu tubuller rete testis aracılığı ile duktus efferentese bağlıdır. Primitif seks kordonları sölom epitelinden mezenşimal bir tabaka olan Tunika albuginea ile ayrılmıştır. Bu tabaka gonadın kan donanımını sağlar. Testis oluşumu belirlendikten sonra

primordiyal germ hücreleri spermatogoniaları oluşturur. Mezonefrik kanal epitellerinden köken alan destek hücreleri de Sertoli hücrelerini şekillendirir. Tubuluslar arasında bulunan ve testisin testosteron hormonunu yapan interstiyel hücreler olan Leydig hücrelerinin kökeni kesin olmamakla birlikte mezodermaldir (Özer ve ark. 2007, McGeady ve ark. 2011).

Testislerin kranial kutbundan sinüs ürogenitalise uzanan mezonefroz kanalları erkek genital kanalları halinde varlığını sürdürür. Duktuli eferenteslerin giriş noktasının kaudalindeki mezonefroz kanalının bir segmenti, epididimisi şekillendirmek üzere uzar ve kıvrımlı bir şekil alır. Mezonefroz kanalının geriye kalan ve kalın bir kas duvarı bulunan kaudal segmenti, duktus deferensi yapar (McGeady ve ark. 2011). Tubuluslarla mezonefroz borucukları arasındaki bağlantı kolları rete testis'i, mezonefrik tubullerin bazıları gonadal kordonlar ile kaynaşarak duktuli efferentes'i, mezonefrik tubullerin testis ile yakın ilişkili olan kısmı duktus epididimidis'i, kaudalde kalan diğer kısmı da duktus deferens'i yapar (Özer ve ark. 2007, Hassa ve Aştı 2010).

## **2.2. Erkek Genital Sistemi'nin Anatomisi**

Erkek üreme sistemi spermatozoonların üretiminden sorumlu olan ve erkek cinsiyet hormonlarını üreten bir çift testisten, üretilen spermatozoonların depolanıp iletilmesinden sorumlu olan genital kanallar, seminal sıvıyı salgılayan eklenik genital bezlerden ve spermayı dışı genital kanala aktaran penisten oluşur (Girgin ve ark. 2008).

Testisler, yarım ay biçimindeki epididymis'in eklenik olduğu tunica albuginea adı verilen sıkı bağ dokudan yapılmış kalın bir kapsül ile sarılı, oval şekilli bir çift organdır. Scrotum denilen deriden bir kese içinde funiculus spermaticus ile asılı durur (Walker ve Homberger 1997, Girgin ve ark. 2008). Üreme sezonu boyunca içerisinde testisler yer aldığı için büyür, fakat nonreproduktif dönemde rodentlerde ve diğer bazı memelilerde testisler vücut boşluğuna çekilir. Birçok memelide sperm hücreleri abdomendeyken oluşan yüksek ısı sırasında tam olgun değildir; sperm oluşumunun final aşaması için skrotumdaki biraz daha düşük olan sıcaklık gereklidir (Walker ve Homberger 1997). Ergin ratlarda inguinal kanal açıktır. Bu yüzden testisler bazen geri karın boşluğuna dönebilir (Poyraz 2000, Bayraktaroğlu 2012).



Deri ve bağdokunun altında, içerisinde testisi bulunduran kremaster boşluklar (keseler) yer alır. Kremaster poşu duvarı, gövde duvarı musculus abdominis transversus'un uzantısı olan kremaster kasından oluşur. Ratta kremaster kası testisin peritoneal boşluğa geri çekilmesinde görev aldığı için iyi gelişmiştir (Walker ve Homberger 1997). Kremasterik poşların içerisindeki boşluk peritoneal kavitenin kaudal bir uzantısıdır ve vaginal kavite olarak adlandırılır. Kremasterik keseye (poşa) ulaşmak için vaginal kavite muskuler abdominal duvar içerisinden geçmek zorundadır. Bu geçiş inguinal kanal olarak adlandırılır (Walker ve Homberger1997).

Hilal şeklindeki epididimis testisi kısmen kuşatır. Seminifer tubullerde üretilen sperm hücreleri testisin kraniyal ucunda rete testis denen ağı oluşturan mikroskobik tubullere geçer. Rat'ta, testisin kraniyal ucundaki rete testis kısmı epididimisin başından testise doğru uzanan kordon benzeri bir yapı şekillendirir. Sperm hücreleri epididimiste ilerlemeye devam eder ve duktus deferens (sperm kanalı)'e girer. Bir grup aksesör genital bez uretraya bağlanmış durumdadır. Bunlar birer çift halinde bulunan prostat, veziküler ve coagulating bez (koyulaştırıcı bez)'lerdir. Bu bezlerin salgıları ejakulasyon boyunca sperm hücrelerini taşıyan, aktive eden, onlar için bazı besinleri sağlayan ve vajinanın hafif asidik ortamını nötralize eden maddeler içeren seminal sıvıyı oluşturur. Ratların veziküler ve coagulating bezleri sadece ejakulasyonun sonuna doğru salgılarını bırakırlar(Walker ve Homberger 1997).

### **2.3. Erkek Genital Sistemi'nin Histolojisi**

#### **2.3.1. Testisin Histolojik Yapısı**

Testisler skrotumdan ayrıldığında tunika vaginalisin pariyetal tabakasının skrotuma yapışık kaldığı viseral tabakanın ise alttaki tunika albuginea tabakası ile birleştiği görülmektedir. Tunika vaginalisin viseral tabakası mezotel hücreleriyle döşelidir ve tunika albuginea ile karışan az miktarda gevşek bağ dokusundan oluşmuştur (Özer ve ark.2007). Tunika albuginea düzensiz kompakt (fibröz) bağ dokusundan oluşmuş dayanıklı bir kapsüldür. Yapısında çoğunlukla kollagen iplikler ile az miktarda elastik yer alır. Testis

arterleriyle anastomozlar yapan vena ağı, tunika albugineanın vaskuler katmanını oluşturur. Kapsülden içeri giren bağ dokusu miktarı türlere göre değişmektedir. Sıçan, fare ve köpek testislerinde bu miktar çok azdır (Özer ve ark. 2007). Seminifer tubüllerin arasını dolduran gevşek bağdokusu kan ve lenf damarları, fibrositler, serbest mononükleer hücreler ve Leydig (interstisyel) hücreler içermektedir. İnterstisyel endokrin hücreler testikülerandrojenler salgırlar. Mezenşim benzeri öncü hücrelerden, fetal ve prepubertal olarak iki jenerasyon interstisyel hücre gelişir. Leydig hücreleri kordonlar ya da kümeler şeklinde bulunurlar ve her hücre bir kılcak damarla yakın temasta değildir (Özer ve ark. 2007)

Yetişkin bir ratta yaklaşık 20 adet seminifer tubul bulunur. Zikzaklı şekilde seyreden tubuller rete testis ile sonlanır. Seminifer tubullerde sırasıyla, spermatogonia, spermatisitler ve 1-2 sıralı spermatid yer alır. Sertoli hücreleri tubülün bazalinden lümenine kadar uzanır (McKeever 1970, Russel 1992, Özer ve ark. 2007, Bayraktaroğlu 2012).

Seminifer tubullerin içerisinde yer alan Sertoli hücreleri prepubertal gonadların farklılaşmış destek hücrelerinden köken alırlar. Erişkin Sertoli hücreleri, düzensiz sınırlara sahip, uzun hücrelerdir. Hücrenin geniş olan taban kısmı bazal membran üzerine oturur ve apikal sitoplazma tubülün lümenine doğru uzar. Oval ya da armut biçimli ve derin kıvrımlara sahip çekirdek, hücrenin geniş olan bazal kısmında yer alır ve büyük bir çekirdekçik içerir (Özer ve ark. 2007). Komşu Sertoli hücreleri birbirlerine, aktin filamanları ve endoplazma retikulumunun yüzeyin hemen altındaki sisternalarıyla ilişkili tight junction'lar ile bağlanırlar. Bu bağlantılar bazal kompartmanı, adluminal kompartmandan ayırır ve kan-testis bariyerini şekillendirir. Spermatogenik köken hücrelerinin yenilenmesi ve spermatogonyumların çoğalması, intertübül doku sıvısının nispeten serbest geçiş yaptığı bazal kompartmanda gerçekleşir. Kan-testis bariyeri, mayoz ve spermiyogenezin yaşamsal işlevlerinin gerçekleşmesi için gerekli olan kontrollü bir mikro çevrenin oluşmasını sağlar (Özer ve ark. 2007, Girgin ve ark. 2008). Sertoli hücreleri spermatogenik hücreler için beslenme, korunma ve destek görevlerini üstlenmiştir. Ayrıca dejenere spermatogenik hüceleri ve spermatidlerden ayrılan artıkları fagosite ederler; FSH ve testosteronun germ hücreleri üzerindeki etkilerini ayarlarlar; spermatogenik olayların senkronizasyonuna katılırlar; spermatogenik faaliyetlerin düzenlenmesine yardım etmek için ABP (androjen bağlayıcı protein), testiküler tansferin,

anti mülleriyen hormon, inhibin gibi maddeler sentezler ve salgırlar (Özer ve ark. 2007, Girgin ve ark. 2008).

FSH, Sertoli hücrelerini aktive ederek germ hücrelerinde mayozun tamamlanmasını sağlar. Testosteronu östrojenlere dönüştürür. Östrojenler seminifer tubullerin bazal ve adluminal bölümlerine girerler. Seminifer tubullerden de periferine doğru hareket ederek kana karışrlar ve kandaki östrojen miktarını arttırlar. Sertoli hücreleri testosteronu dihidrotestosteron'a da dönüştürürler ve oluşan bu androjenin biyolojik potansiyeli testosteron'dan daha yüksektir. Ayrıca, testosteron seminifer tubulün bazal bölümünden adluminal bölümüne Sertoli hücreleri yolu ile geçer ve bu geçiş aşamasında herhangi bir değişikliğe uğramaz. ABP, Sertoli hücrelerinin ürettiği maddelerden bir tanesidir. ABP, seminifer tubullerde androjen konsantrasyonunun stabilize edilmesinde ve tubullerdeki androjenlerin etki göstermek üzere toplayıcı rete kanallarına ve kaput epididimise yönlendirilmesinde rol alır. Protein yapısında olan inhibin FSH uyarımına bir yanıt olarak sertoli hücrelerince üretilir ve FSH salgılanmasını durdurmak üzere hipofizin ön lobundaki gonadotropin üzerine etki yapar. Yüksek derecedeki spermatojenik aktiviteyi ve Sertoli hücre aktivitesini engellemek amacıyla inhibin negatif geri bildirim yoluyla FSH konsantrasyonunu baskılamaktadır. Bunun aksine Sertoli hücreleri tarafından üretilen ve kimyasal olarak inhibine benzeyen bir molekül olan aktivin ise hipofiz bezi üzerine pozitif geri bildirim uygular. Böylece FSH salgılanmasını uyararak germ hücrelerinin gelişmesini sağlar. Erkekde dolaşımdaki FSH seviyesinin yükselmesi sonucu inhibin düzeyi de artar. Bunu takiben Sertoli hücrelerinin aktivitesi azalır. Böylece spermatogenez baskılanmış olur (Brackett 2008).

Spermatogonyumdan spermatozoon oluşumuna kadar erkek eşey hücrelerinin gösterdiği histolojik süreç spermatogenez olarak adlandırılır (Tekelioğlu 2002). Spermatozoonun gelişme ve farklılaşma aşamalarındaki farklı spermatojenik hücreler, Sertoli hücrelerinin aralarında ya da üst tarafında yer alırlar. Spermatogonyumlardan spermatozoon gelişinceye kadar geçen olaylar dizisi spermatogenezis olarak adlandırılır (Özer ve ark. 2007). Seminifer tubuller iki tip somatik hücre (miyoid ve sertoli hücresi) ile 5 tip germ hücresi içermektedir. Bu germ hücreleri şunlardır: (1) spermatogonia; (2) primer spermatositler; (3) sekonder spermatositler; (4) spermatidler ve salınma sonrasında da (5) spermatozoa'dır (Brackett 2008). Spermatogenezin doğrudan hormon kontrolü testisler içindeki Leydig hücreleri ve Sertoli hücreleri tarafından sağlanmaktadır. Leydig hücreleri

hipofizin ön lobundan salgılanan LH (luteinleştirici hormon) tarafından uyarıldıklarında testosteron üretirler. Prolaktin, LH'nin Leydig hücreleri üzerinde bulunan reseptörlerle etkileşimini kolaylaştırabilir. Seminifer tubuller içinde bulunan Sertoli hücreleri, hipofizin ön lobundan salgılanan ve gonadotropik etkili FSH (folikül stimüle edici hormon)'a bağımlıdır (Brackett 2008).

Spermatozoon baş ve kuyruk olmak üzere 2 kısımdan oluşmaktadır. Bir bağlantı parçası ile baş kuyruğa bağlanmıştır. Kuyruk üç parçadan meydana gelmektedir. Bunlar orta parça, esas parça ve son parça olarak adlandırılırlar (Kierszenbaum 2006). Baş bölümünün büyük kısmını içerisinde paternal DNA'nın olduğu yoğun ve kompakt yapıdaki çekirdek kaplamaktadır. (Erdemir ve ark. 2011). Çekirdeğin ön kısmı akrozomal kep ile sarılıdır ve bu yapının iç ve dış akrozomal membranları arka uçta birleşir. Akrozomal kep çok sayıda hidrolitik ve proteolitik enzimler içerir. Akrozomal enzimler, döllenme esnasında zona pellusida'nın delinmesi için gereklidir. Türe özgü olan ve buna bağlı olarak da türler arasında farklılık gösteren spermatozoon başının şeklini, çekirdeğin şekli belirler. (Özer ve ark. 2007). Rat spermatozoonun baş kısmı 2.5 µm uzunluktadır ve bir kancayı andırmaktadır. Yoğun bir nükleus içermektedir ve akrozom olarak adlandırılan daha az yoğun olan bir uca sahiptir. Kuyruğun orta parçası, sentriyolleri ve mitokondriyal materyalden oluşan spiral sarmal bir kılıfı içerir (IRDG ve CASA 2000). Orta parçanın esası, karakteristik flagellum yapısındadır: 1 çift merkezi, 9 çift periferik yerleşimli mikrotübül, aksiyal filament kompleksini oluşturur. Bu yapının dışında 9 adet uzunlamasına yerleşimli, gittikçe incelen dış fibriller yer alır. Bu fibriller de heliks tarzında yerleşmiş mitokondriyonlarla sarılmışlardır (Özer ve ark. 2007). Esas parça kuyruğun en uzun parçasıdır. Yedi dış yoğun lif ile sarılı merkezi aksonem ve bir fibröz kılıftan oluşur (Kierszenbaum 2006). Kuyruğun son parçası sadece aksonem yani dokuz mikrotübül çifti tarafından çevrelenmiş 2 sentral tubul bulunan kısa bir parçadır (Kierszenbaum 2006). Son parçanın distalinde bu çiftler teke düşerek değişik seviyelerde son bulur. (Özer ve ark. 2007). Spermatozoon'un uzun bir aksiyal filament içeren kuyruğu, olgun olduğu kısa bir süre için vibratil hale gelir (IRDG ve CASA 2000).

Leydig hücre toplulukları, kan damarları ve lenfatik kanal veya sinuzoidler yakınında, intertubuler alanda yerleşmiştir (Kierszenbaum 2006). Gruplar halinde tunika albuginea, epididimis, spermatik kordon ve mediastinumda da gösterilmiştir. Testosteron hormonu üretilmesi ve salgılanmasından sorumludurlar. Neuroendokrin fonksiyonları da

vardır. Parakrin olarak oksitosin, substans-P,  $\beta$ -endorfin ve benzeri salgılar endokrin fonksiyonlarından dolayı kılcal damarlarla ilişkili değişen boyutlarda topluluklar yaparlar. İki çekirdekli olabilirler. Tipik steroid salgısı yapan hücelere benzerler. Bu hücelerde salgı granülü bulunmaz, üretilen testosteron ihtiyaca göre sentezlenir ve bekletilmeden kana verilir (Tekelioğlu 2002).

Leydig hücrelerinin büyümesi, gelişmesi ve işlevleri LH'nin tropik etkisine bağımlıdır. LH'nin yokluğu Leydig hücrelerinin küçülmesine ve testosteron üretiminin durmasına yol açarken, LH'nin salgılanması Leydig hücrelerini uyararak hipertrofiye olmalarını sağlar. Leydig hücreleri testosteron ürettiği müddetçe LH üzerinde negatif geri bildirim ile hormonal homeostaz sürdürülür. Yükselen testosteron seviyeleri LH üzerinde negatif geri bildirim oluşturarak LH salınımını durdurur ve takiben testosteron seviyeleri düşer (Brackett 2008).

Leydig hücrelerinin hormonu olan testosteronun başlıca fonksiyonları: normal seksüel davranışların sergilenmesi, penis eklenti bezleri ve sekonder erkeklik karakterlerinin gelişmeleri ile fonksiyonlarının sürdürülmesinin başlatılması, spermatogenezisin kontrolü (folikül stimüle edici hormon FSH ile birlikte), hipofiz ve hipotalamusa negatif feedback etkisi, genel anabolik etkiler ve doğumdan önce wolf kanalının varlığını koruma ve onun duktus deferens ile epididimise farklılaşması olarak sıralanabilir (Özer ve ark. 2007).

### **2.3.2. Rete Testis'inve Epididimis'in Histolojik Yapısı**

Spermatozoonlar dışarıya ulaşmadan önce mutlaka uzun ve ince kanallardan geçmek zorundadırlar. Bütün memeli hayvanlarda seminifer tubüllerin çoğu rete testis civarında son bulurlar ve testis tubülleri olarak bilinen tubulus rektus'lar ile rete testise bağlanırlar (Özer ve ark. 2007).

Mediastinum testisin gevşek bağ dokusu ile sarılı düzensiz anastomozlar yapan kanallar, rete testisi oluşturur (Özer ve ark. 2007). Ratlarda rete testis intratestiküler ve ekstratestiküler bölüm olmak üzere iki kısımdan oluşur. İntratestiküler bölüm merdiven benzeri kanallar ağı şeklindedir. Ekstratestiküler bölüm ise düzensiz bölünmüş kavite şeklindedir ve duktuli efferentes'e açılır (Roosen-Runge 1961, Leeson 2005).

Spermatozoonlar rete testislerden duktuli eferentesler vasıtasıyla toplanırlar ve duktus deferense aktarırlar (Özer ve ark. 2007).

Ratlarda bir çift epididimis kaput, istmus ve kauda bölümlerinden oluşur. Kanalları silyalı epitel ile örtülüdür (McKeever 1970, Bayraktaroğlu 2012). Epididimisin etrafında düzensiz kompakt bağ dokusunda oluşmuş bir tunika albuginea ve en dışında da tunika vaginalisin visseral yaprağı bulunur (Özer ve ark. 2007).

Duktuli efferentes ve duktus epididimidis'in başlanıç kısımları epididimisin kaput (baş) kısmını oluşturur. Duktuli eferentes rete testis'i duktus epididimidis'e bağlar. Duvarları silyumlu ve silyumsuz tek katlı prizmatik epitel ile döşelidir. Silyumlu hücreler spermatozoonların duktus epididimidise doğru hareket etmelerine yardımcı olurken, silyumsuz hücrelerin çoğu absorpsiyon işlemine katılır. Kanal epiteli etraflarından 3-6 sıra gevşek bir biçimde yerleşmiş mikro miyofibroblastlar ve bağ dokusuyla çevrelenmiştir (Özer ve ark. 2007).

Duktus epididimidis tek ve oldukça kıvrımlı olan bir kanaldır. Kanalın uzunluğu türlere göre değişir. Bu kanal çevresini saran bağ dokusu ile birlikte epididimisin kavda (kuyruk) ve korpusunu (gövde) oluşturur. Küçük, poligonal şekilli bazal hücreler ve prizmatik hücrelerden oluşan stereosilyumlu yalancı çok katlı prizmatik epitel ile döşenmiştir. Epitel içinde makrofaj ve lenfositlere de rastlanır. Epitel katmanı, sayısı epididimisin kavdasına doğru gittikçe artan sirküler seyri düz kas hücreleri ile çevrelenmiştir (Junqueira ve Carneiro 2003, Özer ve ark. 2007). Testisi terk eden sıvının büyük bir kısmı duktuli efferentesler ile duktus epididimidis'in proksimal kısmında geri emilir. Sertoli hücrelerinden salgılanan androjen bağlatıcı protein ve inhibin de buradan emilir (Özer ve ark. 2007). Duktus epididimidis spermatozoonların olgunlaştığı, dölleme yetenekleri için gerekli olan ileriye doğru hareket etme özelliğini kazandıkları kanaldır (Kierszenbaum 2006).

Duktus epididimidis, kauda kısmının sonunda duktus deferens denen kalın duvarlı, düz kanala dönüşür (Junqueira ve Carneiro 2003, Özer ve ark 2007). Duktus deferens silyalı yalancı çok katlı prizmatik epitel katmanı, kalın bir katman halindeki sirküler ve longitudinal seyirli düz kaslar ve organı dıştan saran tunika seroza'dan oluşur (Khan ve ark. 2003, Özer ve ark. 2007, Bayraktaroğlu 2012).

## **2.4. Ratlarda Spermatozoon'un Mikroskopik Muayenesi**

### **2.4.1. Spermatozoa Yoğunluğunun Belirlenmesi**

Birim hacimde bulunan spermatozoa sayısının bulunması ile spermatozoon yoğunluğu tespit edilebilmektedir. Birim hacim olarak bazı ülkeler  $\mu$ l, bazıları ise ml kullanmaktadır. Ancak ejakulatta bulunan toplam spermatozoa sayısı gözönünde bulundurulacağından hangi hacim birimi kullanılırsa kullanılsın ejakulattaki toplam spermatozoa sayısı değişmez. Aynı türdeki hayvanlar arasında hatta bireyler ve aynı bireyden alınan değişik ejakulatlar arasında çevresel faktörler, bakım-besleme, sperma alma şekline bağlı olarak sperma yoğunluğu değişebilir. Sperma yoğunluğunun tespit edilmesi amacıyla uygulanan en güvenli yöntem, bilimsel çalışmalarda sonucunun güvenilirliği açısından hemositometrik yöntemdir. Yoğunluk tayininde spermanın sulandırılmasında Hayem solüsyonu, %10'luk NaCl çözeltisi veya serum fizyolojik içerisine birkaç damla formalin damlatılması ile hazırlanan solüsyonlar kullanılabilir. Sayım için çeşitli lamalar kullanılmakla beraber pratikte Thoma lamı daha çok kullanılmaktadır (Çoyan ve ark. 2002).

### **2.4.2. Spermatozoonların Morfolojik Muayenesi**

Spermatozoonların normal formundan ayrılması fekondasyon kabiliyetinin azalmasına neden olur (Çoyan ve ark. 2002). Rat sperm morfolojisi için genel olarak kabul görmüş bir sınıflandırma şeması yoktur. Farklı şemalar kullanılmakla birlikte (Linder ve ark. 1992, Yoshizaki ve ark. 1999, Kobayashi 2005) total morfolojik anomalilerin belirlenmesinin istatistik sonuçlarını daha doğru bir biçimde ortaya koyduğu düşünülmektedir (Seed ve ark. 1996). Başlı etkileyen ve ortaparçayı ya da kuyruğu etkileyen anomaliler şeklinde yapılan klasifikasyon şeması da yaygın olarak kullanılmaktadır (Rouge 2004).

Bununla birlikte spesifik anomalilerin görüldüğü durumlarda, bu anomalinin de üzerinde durulmasının çalışmaların yorumlanmasına katkıda bulunabileceği ileri sürülmektedir (Seed ve ark. 1996).

Spermatozoonların morfolojik anomalilerinin belirlenmesinde boyama işlemi için spermatozoonların yapısını ortaya çıkaran boyama yöntemleri kullanılabilir. Bu amaçla basit boyama yöntemleri eosin, nigrosin, eosin-nigrosin, bromfenolblue ve çini mürekkebi boyaları kullanılabileceği gibi spermatozoon morfolojisinin incelenmesi için Giemsa, Karras, Farelly gibi boyama yöntemleri de kullanılmaktadır ( Çoyan ve ark. 2002).

## **2.5. Kadmiyum'un Rat Genital Sistemi Üzerine Etkileri**

Ağır bir metal olan kadmiyum, hem insanlar hem de hayvanlar için toksik olan, biyosferdeki en yaygın çevresel kirleticilerden biridir. (Goyer ve ark. 2001, Siu ve ark. 2009, Çolakoğlu ve ark. 2011, Fouad ve ark. 2013). Kadmiyum, oksijen (kadmiyum oksit), sülfür (kadmiyum sülfat), klorid (kadmiyum klorür) gibi elementlerle kombinasyon halinde bulunur. Kadmiyum özellikle akü sanayi, nikel-kadmiyum pil üretimi (Adams 1992), kurşun eritme ve arıtma, demir ve çelik üretimi, kadmiyum içeren pigment üretimi (Elinder ve ark. 1985), çöp yakma, gübreler (Zwenni ve ark. 1992), kadmiyum içeren malzemeler ile (Syers ve ark. 1986, Taylor 1997) metal kaplamada kullanılmaktadır (Elinder ve ark. 1985, Serah ve ark. 2012). Kadmiyum bunlardan başka stabilizatör olarak plastik ve sentetik elyaf sanayinde, televizyon tüpleri ve floresan lamba yapımında, nükleer reaktör kontrol sistemlerinde ve alaşımlarda kullanılmaktadır (Boğa 2007). Sigara da önemli bir kadmiyuma maruz kalma aracıdır (Serah ve ark., 2012, Fouad ve ark. 2013). Kadmiyumun osteomalazi, hepatotoksisite, renal toksisite, nörotoksisitenin yanı sıra infertilite ve kanser ile de bağlantılı olduğu saptanmıştır (Wong ve Klaassen 1982, Din ve Frazier 1985, Jamall ve Smith 1985, Waalkes ve ark. 1988, Yang ve ark. 2006, Serah ve ark. 2012).

Ağır bir metal olan kadmiyum major çevresel toksik ajanlardan biridir. Maden endüstrisinde madenlerin eritilmesi ve işlenmesi gibi endüstriyel aktivitelerde kadmiyum, atmosfere kadmiyum oksit, klorid veya sülfid olarak salınır. Maden endüstrisinde çalışan insanlar ve maden endüstrisinin yakınında bulunan kişiler kadmiyuma maruz kalırlar. Havadaki 0.04 µg/m<sup>3</sup>, içme suyundaki 1 µg/l ve daha düşük seviyelerdeki kadmiyum tehlike göstermemektedir. Bir insan günde ortalama 1 µg/gün yiyecekler yoluyla, 1-3 µg/gün sigara yoluyla kadmiyum absorbe etmektedir. Kadmiyumun böbrek, prostat,



karaciğer ve pankreası içeren birçok organda kanserojenik etki gösterdiği bildirilmektedir. Bununla beraber kadmiyum insan vücudunda oldukça uzun süren yarılanma ömrüne sahiptir ve böbrek ve karaciğer başta olmak üzere bütün vücutta birikme eğilimi göstermektedir. Kadmiyum vücutta absorbe olduktan sonra albumine bağlanarak karaciğere gelir ve karaciğerde sisteinden zengin ağır metal bağlayan bir protein olan metallothionein (MT)'in sentezini indükler. MT'ye bağlı kadmiyum karaciğerden plazmaya geçer ve idrar ile atılır. Yapılan çalışmalarda kadmiyumun, testis dokusunda oldukça ciddi yapısal bozukluklar meydana getirdiği saptandı. Uzun süre kadmiyum maruziyetinin infertiliteye sebep olan ciddi hasarlar oluşturabileceği söylenebilir (Çolakoğlu ve ark. 2011).

Yapılan bir başka çalışmada kadmiyuma maruz bırakılan ratların testis ve epididimisinde ağırlık olarak bir azalmanın olduğu; testislerde, epididimis kanallarında ve seminal veziküllerinde dejeneratif değişikliklere sebep olduğu gözlemlenmiştir. Erkek üreme organında kadmiyumun hasar etkisi oldukça fazladır. Kadmiyum testislerde kanamalara, ödeme ve nekrozlara yol açar. Kadmiyum testis dışında diğer organlara da ciddi zarar verir. Karaciğer, böbrek, kemik, yumurtalık ve testisler üzerinde sorunlar oluşturur. Bunun dışında tümörlere de sebep olduğu bazı kaynaklarda bildirilmektedir (El-Ashmawy ve ark. 1999, Ibrahim ve ark. 1999).

## **2.6. Theranekron'un Dokular Üzerine Etkisi ve Tedavi Amaçlı Kullanım Alanları**

Kıllı kahverengi örümcek diye bilinen Tarantula Cubensis'in zehri bazı canlılarda felç yapma ve ölüm riski taşısa da bu zehir laboratuvar koşullarında alkol extratı ile panzehire dönüştürülmüştür. Piyasada bu panzehir Theranekron isminde kullanılıp birçok hastalığın tedavisinde kullanılmıştır. Jinekoloji alanında en yaygın çalışmalardan biri olan endometriozis hastalığı bunun başlarında gelmektedir. Endometriozis hastalığı endometriyum bezlerinin normal olarak rahim iç tabakasında bulunması gerekirken rahim dışında vücudun diğer bölgelerinde de bulunmasıdır. Endometriozis dişilerde kısırlığa sebep olan etmenlerden birisidir. Bu hastalığın tedavisinde, Theranekron kontrollü biçimde hasta olan rata verilmiştir. Sonuçlara bakıldığında Theranekronun endometriyum bezlerine etki ettiği ve bezlerin rahimin içine doğru gerilediği gözlemlenmiştir. Yapılan

araştırmalarda teranecron ilacının hayvanlarda görülen farklı hastalıkların tedavisinde de kullanıldığı bilinmektedir (Dolapcioglu ve ark. 2013).

Homeopatik bir ilaç olan theranekron (*Tarantula cubensis* ekstraktı), meme tümörü bulunan köpeklerde, savunma oluşturarak tümör büyümesini durdurduğu ve bazı olgulardada tümörün kldğu görülmektedir. Ayrıca nks olgusunun yıllarca görülmediği ve yaşam kalitesinin eskiye oranla önemli oranda arttığı vurgulanmaktadır. Homeopati, ilk kez onsekizinci yüzyılın sonlarında Dr. Samuel Hahnemann tarafından tanıtılmış "benzeşeyler benzerleriyle tedavi edilebilir = similia similibuscurantur" savına dayanan bir sağıtım metodudur. Bu kavram, yüksek dozları kullanıldığında aynı hastalık belirtilerini oluşturan ilaçların, seyreltilmiş dozlarıyla hastalığın tedavisi anlamına gelmektedir. *Tarantula cubensis*'in etkileri, tümör büyümesinin durması, genel durumun düzelmesi, lenf bezlerindeki şişkinliklerin azalması, tümör merkezinin sertleşmesi, kapsülün kalınlaşması ve tümörü çevreleyen dokuda demarkasyon şeklinde sıralanabilir (Kaçar ve ark. 2007)

Sığırlarda ülser, paronişi ve apse tedavilerinde kullanılmıştır. Theranekronun bazı hastalıklarda tedavi olarak kullanılmasının sebebi ise patolojik ve normal hücreleri birbirinden ayırması, çok hızlı rejenerasyon özelliği göstermesinden dolayı vücudun savunma mekanizmasını harekete geçirdiği düşünülmektedir (Dolapcioglu ve ark. 2013).

Theranekron abuk iyileştirme özelliğinden dolayı bazı bilim adamlarının farklı tedavilerine konu olmuştur. Çiftlik hayvanlarında yapılan bir çalışmada, Theranekronun yaraların kapanmasında ve yaraların daralmasında etkili olup olmadığı kontrollü deneylerle incelenmiştir. Yapılan araştırmalar sonucu Theranekronun yaraların ileşme sürelerini arttırdığı ve yara daralmasını hızlandırdığı bulgularına ulaşılmıştır (Sardari ve ark. 2007).

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. Grupların Oluşturulması

Çalışmada 40 adet, 200 – 250 g ağırlığında, erişkin, erkek Wistar Albino rat kullanıldı. Denekler, kadmiyum klorür içermeyen %0.9'luk NaCl (subkutanöz) verilecek olan kontrol grubunda (1. grup), kadmiyum klorür uygulanıp (%0.9'luk NaCl içerisinde çözdürülmüş) (7 mg/kg, subkutanöz) tedavi uygulanmamış grupta (2. ve 3. grup), kadmiyum klorür uygulanıp (%0.9'luk NaCl içerisinde çözdürülmüş) (7 mg/kg, subkutanöz), 24 saat sonra Theranekron (0.3 mg/kg, subkutanöz) enjekte edilmiş grupta (4. grup) ve kadmiyum klorür içermeyen %0.9'luk NaCl (subkutanöz) uygulanıp, 24 saat sonra Theranekron (0.3 mg/kg, subkutanöz) enjekte edilmiş grupta (5. grup) 8 adet rat bulunacak şekilde beş ayrı gruba bölündü.

**1. grup:** Kadmiyum klorür içermeyen %0.9'luk NaCl (subkutanöz) uygulanan kontrol grubu, (8 hayvan)

**2. grup:** Kadmiyum klorür uygulanıp (%0.9'luk NaCl içerisinde çözdürülmüş) (7 mg/kg, subkutanöz) tedavi uygulanmamış grup, (24 saat sonra sakrifikasyonu yapıldı) (8 hayvan)

**3. grup:** Kadmiyum klorür uygulanıp (%0.9'luk NaCl içerisinde çözdürülmüş) (7 mg/kg, subkutanöz) tedavi uygulanmamış grup, (işlemden 6 gün sonra sakrifikasyonu yapıldı) (8 hayvan)

**4. grup:** Kadmiyum klorür uygulanıp (%0.9'luk NaCl içerisinde çözdürülmüş) (7 mg/kg, subkutanöz) 24 saat sonra Theranekron (0.3 mg/kg, subkutanöz) enjekte edilmiş grup, (işlemden 6 gün sonra sakrifikasyonu yapıldı) (8 hayvan)

**5. grup:** Kadmiyum klorür içermeyen %0.9'luk NaCl (subkutanöz) uygulanıp, 24 saat sonra Theranekron (0.3 mg/kg, subkutanöz) enjekte edilmiş grup (8 hayvan) olarak ayrıldı.

4. ve 5. gruplarda Theranekron uygulaması yapıldıktan sonra, Theranekronun etkisini gösterebilmesi için 5 gün beklendi. Tüm gruplarda bulunan deneklerin ketamin-xylasine anestezisi altında dekapitasyon ile sakrifikasyonu yapıldı.

### **3.2. Biyokimyasal Analiz Metodu**

Deneklerin kalbinden alınan kan örneklerinden elde edilen kan serumunda MDA (Malondialdehyde) ve NO (nitrik oksid) düzeylerine bakıldı. Biyokimya analizleri Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Laboratuvarı'nda yapıldı.

NO düzeyine bakabilmek için Nitrat/Nitrit Kolorimetrik Ölçüm Kiti kullanıldı (Cayman Chemical, 780001).

Plazma MDA düzeylerinin tayini spektrofotometrik olarak Ohkawa ve ark. (1979) tarafından önerilen metoda göre yapıldı. Plazma MDA tayini; aerobik şartlar altında ve pH:3.5'te, doku homojenatının kaynar su banyosunda bir saat inkubasyonu sonucu, lipid peroksidasyonunun sekonder ürünü olan MDA'nın TBA ile oluşturduğu pembe renkli kompleksin 532 nm'de spektrofotometrik olarak ölçümü esasına dayanır.

### **3.3. Spemanın Mikroskopik Muayenesi İçin Uygulanan Prosedür**

Her deneğin sol kauda epididimisi alınarak petri kaplarına konuldu ve küçük parçalara ayrıldı. Normal ve anormal sperm morfolojisine bakabilmek için, elde edilen sperm süspansiyonundan bir miktar alınıp Hancock solüsyonu içerisine konarak tespit edildi. Bu solüsyondan 3-4 damla lam üzerine damlatılarak, smear hazırlandı. Her bir denek için iki adet hazırlanan smear örnekleri, %1'lik eosin B ile boyandı (Çoyan ve ark. 2002).

Her smear örneğinde 300 spermatozoon baş ve kuyruk morfolojisi açısından mikroskopik olarak incelendi. Morfolojik anomaliler total, baş, kuyruk ve distal sitoplazmik damlacık anomalileri şeklinde sınıflandırıldı (Çoyan ve ark. 2002, Seed ve ark. 1996).

Spermatozoa yoğunluğunun belirlenmesi için Thoma lamı (new) kullanılarak birim hacimde bulunan spermatozoon sayısı tespit edildi. Thoma lamında incelemek için sperma %0.9'luk serum fizyolojik ile 1/200 oranında sulandırıldı. Thoma lamında yer alan her iki sayım sahası da kullanılarak her bir rat için sayım yapıldı (Çoyan ve ark. 2002).

### **3.4. Dokulara Uygulanan Histolojik Prosedür**

Histolojik incelemeler için alınan testis ve epididimis dokusu örnekleri, %10'luk nötür Formol ile tespit edildikten sonra, 24 saatlik yıkama işlemini takiben dereceli alkollerden geçirildi. Ksilolde bekletildikten sonra parafin içine gömülerek bloklama işlemi yapıldı. Hazırlanan parafin bloklardan 5 mikronluk seri kesitler alındı. Testis ve epididimisin genel yapısını ortaya koymak amacıyla kesitler Crossman'ın modifiye üçlü boyama tekniği (Denk ve ark. 1989) ile boyandı. Boyaması yapılan kesitlerin dehidrasyonları yapıldıktan ve ksilol ile parlatıldıktan sonra Entellan® kullanılarak kapatıldılar. Sonuçların değerlendirilmesi kesitlerin CX21 Olympus binoküler mikroskoba bağlı Olympus sc100 kamera sistemi ve cellSens Entry bilgisayar görüntüleme sistemi kullanılarak yapıldı, uygun görülen bölgelerin fotoğrafları çekilerek çalışma içerisinde kullanıldı.

### **3.5. İstatistiksel Analizler**

Sonuçlar ortalama  $\pm$  Standart Hata(SE) olarak ifade edildi. Her beş gruba ait biyokimya analiz bulguları ile sperm yoğunluğu ve sperm morfolojik anormalliklerinin istatistiksel değerlendirmesi ve bu gruplar arasındaki farklılıklar varyans analizi (ANOVA) ile analiz edildikten sonra gruplar arasındaki tüm parametrelerde anlamlı farklılıklar tespit edebilmek için Duncan'ın post. Hoc. Testi uygulanarak SPSS (IBM SPSS Statistics 23, <https://mku.edu.tr/files/program/SPSS23.rar>) programı uygulandı.

## 4. BULGULAR

### 4.1. Makroskopik Bulgular

Kadmiyumlu gruplarda (2, 3 ve 4. Gruplar) testiste morluklar, dış yapısında bozulma tespit edildi. Üçüncü grupta testisin makroskopik görüntüsünde küçülme ve kanama gözlemlendi. Kadmiyum-Theranekron uygulanan 4. grupta testisin makroskopik görüntüsünde küçülme ve kanama görüldü. Ayrıca kauda epididimiste kontrol grubuna göre küçülme olduğu saptandı.

### 4.2. Biyokimyasal Bulgular

Lipid peroksidasyon ürünü olan MDA analizlerinin değerlendirilmesi yapıldığında kontrol grubu ile diğer gruplar arasında istatistiksel farklılık gözlenmemektedir.

Gruplar arası nitrit düzeyleri karşılaştırıldığında bir farklılığa rastlanmazken, nitrat düzeyleri karşılaştırıldığında Kadmiyum + Theranekron grubunun diğer gruplara göre istatistiksel fark verdiği, yükseldiği görülmektedir. Kadmiyum 6 gün grubu Kadmiyum + Theranekron grubuna benzer sonuç gözlenmiştir. Nitrit/nitrat düzeyleri incelendiğinde istatistiksel olarak önemli düzeyde olmasa da kadmiyum 24 saat grunda diğer gruplara göre nitrit/nitrat oranının arttığı gözlenmektedir (Çizelge 4.1).

Çizelge 4.1: Theranekron ve Cd uygulanan ratların kan serumunda Nitrat/Nitrit Colorimetrik Assay Kit ile (Cayman Chemical, Item No: 780001) ve MDA kit ile elde edilen nitrit, nitrat, nitrit/nitrat ve MDA düzeylerinin analiz sonuçları: (Mean  $\pm$ SE, n=7)

	N	Nitrit		N	Nitrat		N	Nitrit/nitrat		N	MDA	
		Mean	Std. Error		Mean	Std. Error		Mean	Std. Error		Mean	Std. Error
Kontrol	7	8,326	2,740	7	36,799 a	5,307	7	0,302 ab	0,120	8	3,355	0,187
Kadmiyum 24 saat	8	12,767	1,972	8	28,014 a	4,587	8	0,606 b	0,148	8	3,556	0,317
Kadmiyum 6 gün	8	10,347	2,821	8	42,639 ab	6,337	8	0,2450 a	0,060	8	3,452	0,242
Theranekron	5	6,579	1,014	5	32,902 a	5,854	5	0,254 a	0,081	8	3,702	0,273
Kadmiyum+Theranekron	7	9,020	1,418	7	56,884 b	7,952	7	0,188 a	0,044	8	3,603	0,193
	7			7	p<0.05		7	p<0.05		7		

### 4.3. Sperm Yoğunluğu ve Morfolojisi İle İlgili Bulgular:

Sperm yoğunluğu değerlendirmelerinde kadmiyum 24 saat grubu kontrol grubuna göre istatistiksel farklılık görülmüştür. Kadmiyum 6 gün grubu ile kadmiyum 24 saat grubu arasında farklılık görülmezken, kontrol grubuna göre istatistiksel fark gözlenmiştir. Theranekron grubu, kontrol grubu ve kadmiyum 24 saat grubu ile benzer değerler göstermektedir. Kadmiyum+Theranekron grubunun kontrol, kadmiyum 24 saat ve Theranekron gruplarının 3'ü ile de istatistiksel fark verdiği gözlenmiştir. Kadmiyum+Theranekron grubu kadmiyum 6 gün grubu ile benzer değer göstermektedir. Theranekron grubu kadmiyum 6 gün grubu ile benzer değer göstermektedir. Kadmiyum 24 saat, Kadmiyum 6 gün, Theranekron ve Kadmiyum+Theranekron gruplarının hepsinde de kontrol grubuna göre bir düşüş olduğu görülmektedir. Bununla birlikte kadmiyum+Theranekron grubunun diğer 3 gruba oranla çok daha yüksek düzeyde farklılık gösterdiği, sperm miktarının ciddi anlamda düştüğü gözlenmektedir (Çizelge4.2).

Sperm morfolojisi değerlendirmelerinde kadmiyum 6 gün grubunda 2 adet, Kadmiyum+Theranekron grubunda 4 adet ratın kauda epididiminden hiç sperm elde edilememiştir. İstatistik sonuçlarını etkilememesi için bu ratlar değerlendirmeye alınmamıştır. Şekil 4.1'de normal bir spermatozoona ait görüntü yer almaktadır. Morfolojik anomaliler total, baş (Şekil 4.2, yıldız), kuyruk (Şekil 3, ok) ve distal sitoplazmik damlacık anomalileri (Şekil 4.3,4.4,4.5 ok başları) şeklinde sınıflandırılmıştır. Kontrol grubuna ait bulgular (Şekil 1) ile karşılaştırılarak istatistiksel analizleri yapılmıştır (Çizelge4.3).

Total sperm morfoloji anomalisi açısından bakıldığında kadmiyum 24 saat grubu ve theranekron grubunun kontrol grubu ile istatistiksel açıdan farklı olmadığı görülürken, kadmiyum 6 gün grubu ile Kadmiyum+Theranekron grubu kontrol grubu ile karşılaştırıldığında değerlerin yükseldiği gözlenmektedir. Özellikle Kadmiyum+Theranekron grubunda total anomalinin kadmiyum 6 günden de daha yüksek farklılık verdiği saptanmıştır. İstatistiksel açıdan kadmiyum 24 saat grubu ve theranekron grubu kontrol grubuna göre farklılık göstermemekle birlikte değerlere bakıldığında aslında anomali miktarında ciddi anlamda bir artış olduğu gözlenmektedir.

Sperm baş anomalisi yönünden istatistiksel sonuçlar değerlendirildiğinde Kadmiyum 6 gün grubu ile Kadmiyum+Theranekron grubunun kontrol grubuna göre farklılık

gösterdikleri görülmektedir. Kadmiyum 6 gün grubu ile Kadmiyum+Theranekron grubunun değerleri arasında farklılık bulunmamaktadır. Theranekron grubunun kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan farklı olmadığı görülmekle birlikte, değerlere bakıldığında baş anomalisi yönünden ciddi anlamda bir artış olduğu gözlenmektedir.

İstatistiksel açıdan kuyruk anomalisi değerlendirildiğinde sadece kadmiyum+Theranekron grubunun kontrol grubuna göre farklı olduğu, diğer grupların kontrol grubu ile sonuçlarının benzer olduğu görülmektedir. Bununla birlikte istatistiksel açıdan farklılık görülmemekle birlikte, kadmiyum 6 gün grubunda kuyruk anomalisi kontrol grubuna göre önemli düzeyde artmıştır.

Sperm distal damlacık anomalisi yönünden istatistiksel sonuçlar değerlendirildiğinde sadece Kadmiyum+Theranekron grubunun kontrol grubuna göre farklılık gösterdiği görülmektedir. Kadmiyum 6 gün ve Theranekron grupları istatistiksel açıdan farklılık göstermemekle birlikte, değerlere bakıldığında her iki grubun değerleri de kontrol grubuna göre önemli düzeyde yüksektir. Kontrol 6 grubunda theranekron grubuna göre daha fazla artış vardır.

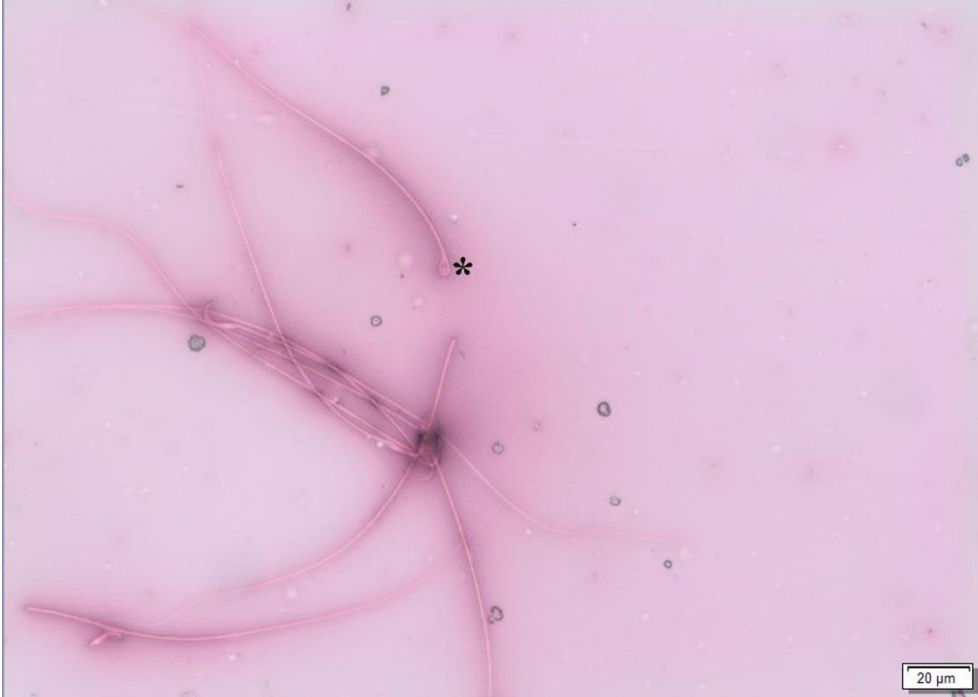
Çizelge4.2: Kauda epididimal sperm sayımlarına ait istatistik çizelgesi

Mean±SE	n	Sperm count x 10 <sup>6</sup> sperm
Kontrol	8	347,11±25,84 <sup>a</sup>
Kadmiyum 24 saat	8	228,20±22,76 <sup>b</sup>
Kadmiyum 6 gün	5	171,40±12,19 <sup>bc</sup>
Theranekron	8	285,60±48,99 <sup>ab</sup>
Kadmiyum+Theranekron	4	67,73±21,94 <sup>c</sup>
P		0,001

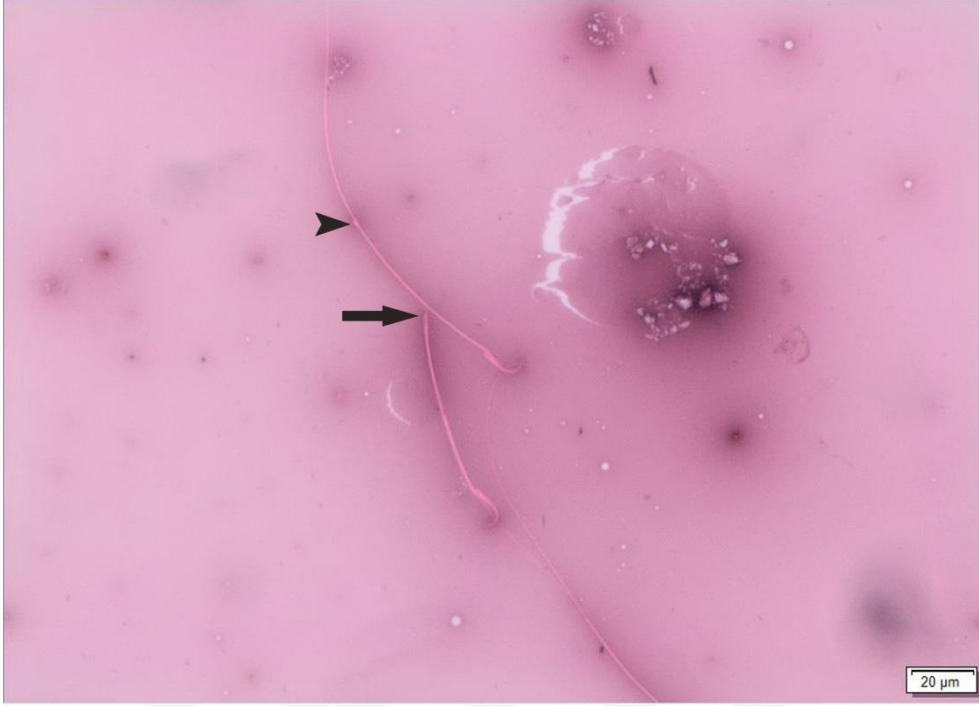




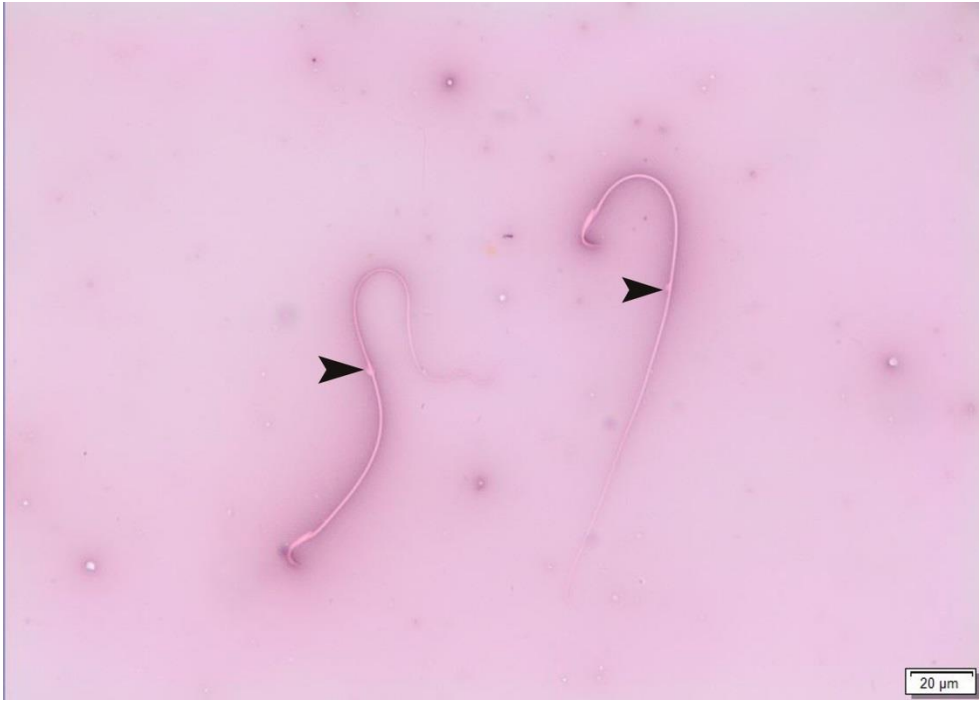
Şekil 4.1: Normal morfolojik yapıya sahip spermatozoon görünümü. Eosin B.



Şekil 4.2: Baş anomalili (\*) spermatozoon (Kadmiyum 24 saat grubuna ait). Eosin B.



Şekil 4.3: Smear örneğinde distal sitoplazmik damlacık (ok başı) ve kuyruk anomalisi (ok) gözlenen spermatozoonlar (Kadmiyum 6 gün grubuna ait). Eosin B.



Şekil 4.4: Distal sitoplazmik damlacık (ok başları) anomalili spermatozoonlar (Kadmiyum+ Theranekron grubuna ait smear örneğinden). Eosin B.



Şekil 4.5: Distal sitoplazmik damlacık (oklar) anomalili spermatozonlar (Therane kron grubuna ait smear örneğinden). Eosin B.

Çizelge 4.3: Sperm anomalilerine ait istatistik çizelgesi

Mean±SE	n	Totalanomalı %	n	Baş anomalisi %	n	Kuyruk anomalisi %	n	Distal Damlacık anomalisi %
Kontrol	8	0,23±0,09 <sup>a</sup>	8	0,15±0,06 <sup>a</sup>	8	0,15±0,07 <sup>a</sup>	8	0,00±0,00 <sup>a</sup>
Kadmiyum 24 saat	8	1,13±0,21 <sup>a</sup>	8	0,46±0,10 <sup>a</sup>	8	0,60±0,18 <sup>a</sup>	8	0,08±0,03 <sup>a</sup>
Kadmiyum 6 gün	6	20,86±7,76 <sup>b</sup>	6	15,47±6,07 <sup>b</sup>	6	2,23±0,49 <sup>a</sup>	6	3,46±1,28 <sup>a</sup>
Therane kron	8	3,25±0,83 <sup>a</sup>	8	1,02±0,33 <sup>a</sup>	8	0,98±0,22 <sup>a</sup>	8	1,25±0,33 <sup>a</sup>
Kadmiyum + Therane kron	4	45,40±19,45 <sup>c</sup>	4	19,43±11,87 <sup>b</sup>	4	10,90±8,50 <sup>b</sup>	4	15,07±7,09 <sup>b</sup>
p		=0,000		=0,003		=0,03		=0,000

#### 4.4. Histolojik ve Histopatolojik Bulgular:

Grup 1'in testis ve epididimis kesitlerinde genel görünümün normal olduğu gözlemlendi. Seminifer tubuller (Şekil 4.6, st), germ hücreleri (Şekil 4.7), sertoli (Şekil 4.7, st) ve leydig hücreleri (Şekil 4.6, lh), epididimal kanallar (Şekil 4.8, 4.9, 4.10) tam olarak görüldü. Herhangi bir yapısal bozukluğa, infiltrasyona da hemorajiye rastlanmadı.

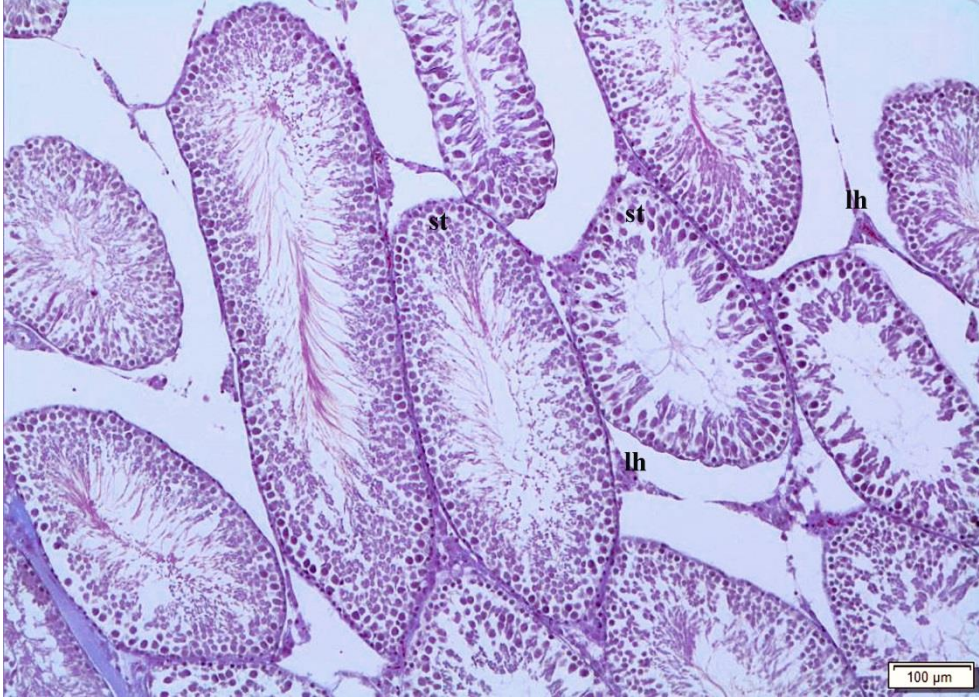
Grup 2'ye ait kesitlerde testiküler dejeneratif değişiklikler gözlemlendi. Seminifer tubullerde yapısal bütünlüğün bozulduğu (Şekil 4.11), tubullerin bazal membranlarından ayrıldığı saptandı (Şekil 4.11, 4.12, ok başı). Spermatogenik hücrelerin histolojik yapılarında bozulma, piknotik değişiklikler görüldü (Şekil 4.12). İnterstisyel bağdokusunda yaygın düzeyde hemoraji, ödem ve lökosit infiltrasyonu bulunurken kan damarlarında hiperemi gözlemlendi (Şekil 4.11, 4.12). Piknotik çekirdekli Leydig hücrelerine rastlandı. Damarlarda lökositler ve lenfosit artışı saptandı. Kanallarda dilatasyona rastlandı. Tüm kanallarda epitel hücrelerinde bozulma, piknotik çekirdekli hücreler ve kanal içerisinde lökosit görüldü (Şekil 4.13, 4.14). Epididimis kanalları içinde spermatidlere rastlandı (Şekil 4.15, yıldız). Duktus deferensin dışını saran bağ dokuda yer yer lökositler görüldü, hemoraji saptandı. Duktus deferens'in diğer epididimal kanallara oranla yapısal bütünlüğünü koruduğu bununla birlikte epitel hücrelerinde hipertrofi ve değişik piknoz aşamalarında piknotik çekirdekler bulunduğu gözlemlendi (Şekil 4.15).

Grup 3'te dejenerasyondan nekroza varan değişikliklere rastlandı. Tunika albugineanın kalınlaştığı saptandı. Testisin interstisyel bağdokusunda yaygın düzeyde hemoraji, dilatasyon gözlemlendi. Damarlarda hiperemi, genişleme saptandı (Şekil 4.16). Seminifer tubullerin yapısal bütünlüğünü tamamen kaybettiği, spermatogenik hücrelerinde jenerasyona uğradığı saptandı (Şekil 4.17). Epididimal bağ dokuda lökosit infiltrasyonu ve anaplazik yapılar bulunurken, epididimal kanallar içerisinde olgunlaşmamış eşey hücrelerine rastlandı (Şekil 4.18). Bazı deneklerde duktus deferensin yapısının tamamen bozulduğu gözlenirken, bazı deneklerde ise sadece epitel hücrelerinde hipertrofi ve değişik piknoz aşamalarında piknotik çekirdekler saptandı (Şekil 4.19). Duktülü eferent testislerin diğer kanallara oranla daha sağlam oldukları görüldü.

Kadmiyum+Theranekron uygulanan grup 4'te tunika albugineanın kalınlaştığı, testisin interstisyel bağdokusunda bozulmalar olduğu görüldü. İnterstisyel bağ dokusunda hiperemi gözlemlendi, hemorajiye rastlanmadı (çok az rastlandı, kadmiyum 6 güne göre)

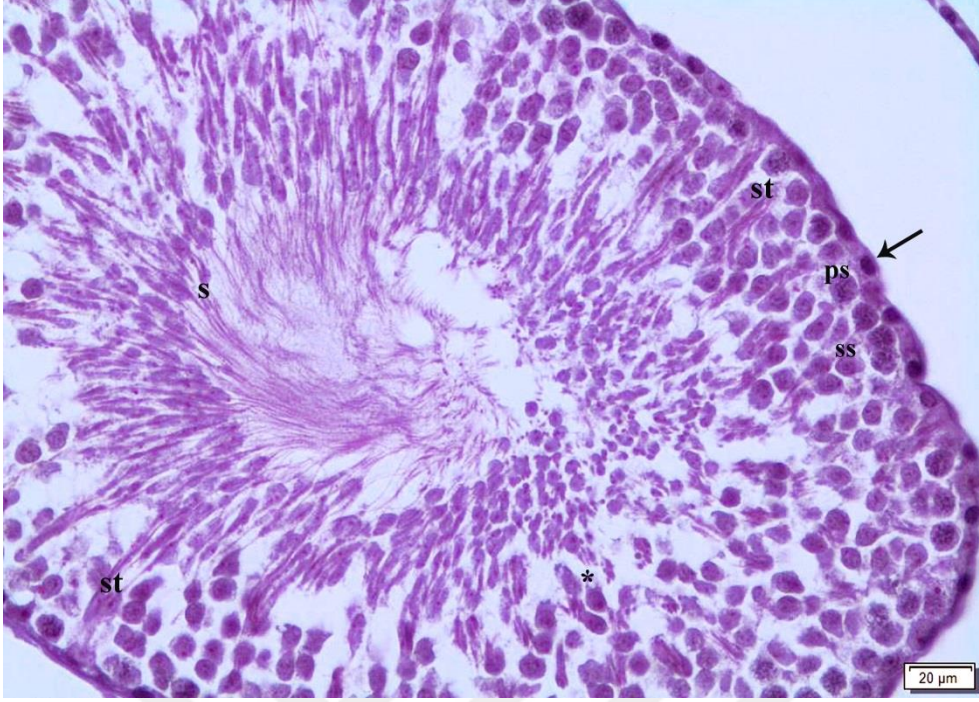
(Şekil 4.20, 4.21). İnterstisyel bağ dokuda displazik yapılara rastlandı (Şekil 4.20). Seminifer tubullerin bazal membranından ayrıldığı, yapısal bütünlüğünün bozulduğu saptandı (Şekil 4.22). Leydig hücrelerinin bozulduğu görüldü. Testisteki damarlarda hiperemi gözlemlendi (Şekil 4.20, 4.21). Epididimiste kanallar arasında bağ doku tarafından sınırlandırılmış anaplazik yapılara rastlandı. Epididimis kanallarının genel olarak yapısal bütünlüğünü koruduğu söylenebilirse de bazı kısımlarda yer yer, bazı kısımlarda ise daha yoğun bir şekilde epitel hücrelerinde hipertrofiye rastlandı, piknotik çekirdekli hücreler gözlemlendi (Şekil 4.24, 4.25). Kanallar içerisinde spermatid görüldü ve farklı gelişme aşamasındaki eşey hücrelerine de rastlandı (Şekil 4.24). Duktus epididimidis'in duktus deferens'e yakın kısımlarından geçen kesitleri incelendiğinde epitel katmanı çevreleyen bağ dokuda kalınlaşma gözlemlendi (Şekil 25). Epitel katman ile bazal membran arasında ayrılmalar saptandı (Şekil 4.26).

Grup 5'e ait kesitlerde testis ve epididimis kanallarının normal yapılarını korudukları gözlemlendi. Seminifer tubullerde, spermatogonik hücrelerde, Sertoli ve Leydig hücrelerinde (Şekil 27, 28), epididimal kanallarda (Şekil 4.29, 4.30) histolojik açıdan herhangi bir yapısal bozukluğa, infiltrasyona ya da hemorajiye rastlanmadı.

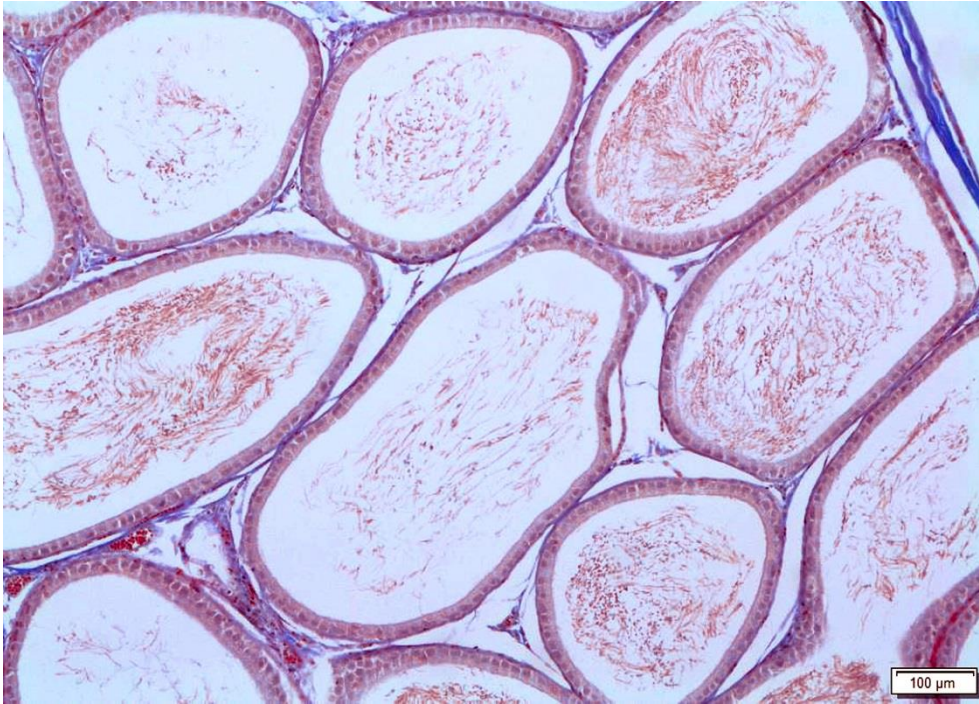


Şekil 4.6: Grup 1'e ait rat testis dokusunun histolojik görünümü. lh: Leydig hücresi, st: seminifer tubul. Triple.



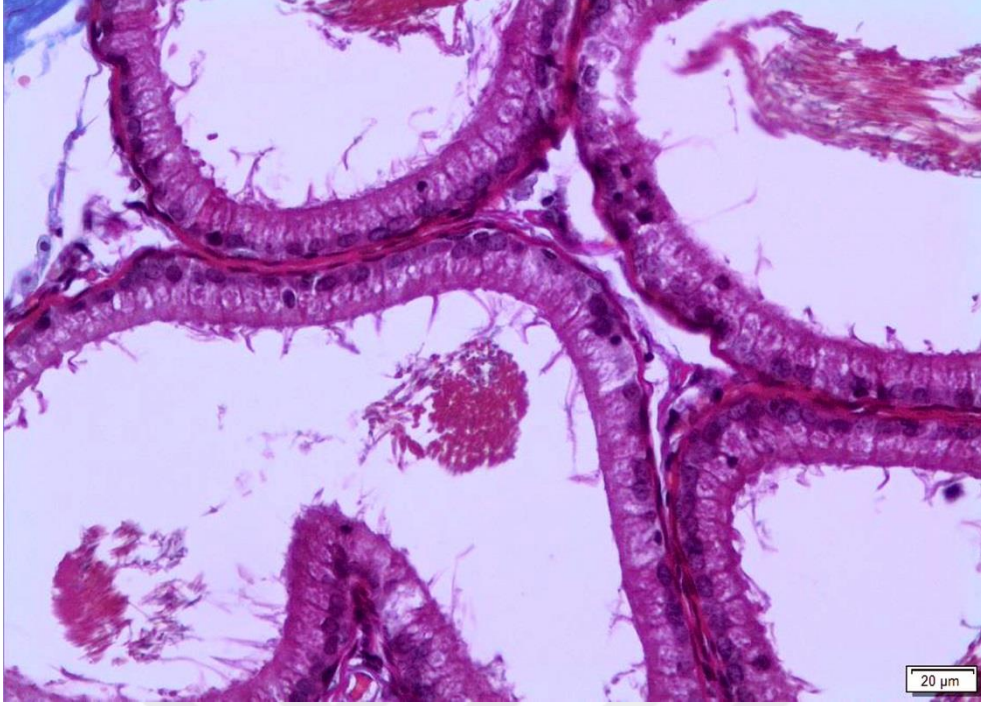


Şekil 4.7: Grup 1'e ait rat testis dokusunda seminifer tubul'ün histolojik görünümü. ps: primer spermatozoid, s: spermatozoid, ss: sekonder spermatozoid, st: Sertoli hücresi, ok: spermatozoid. Triple.

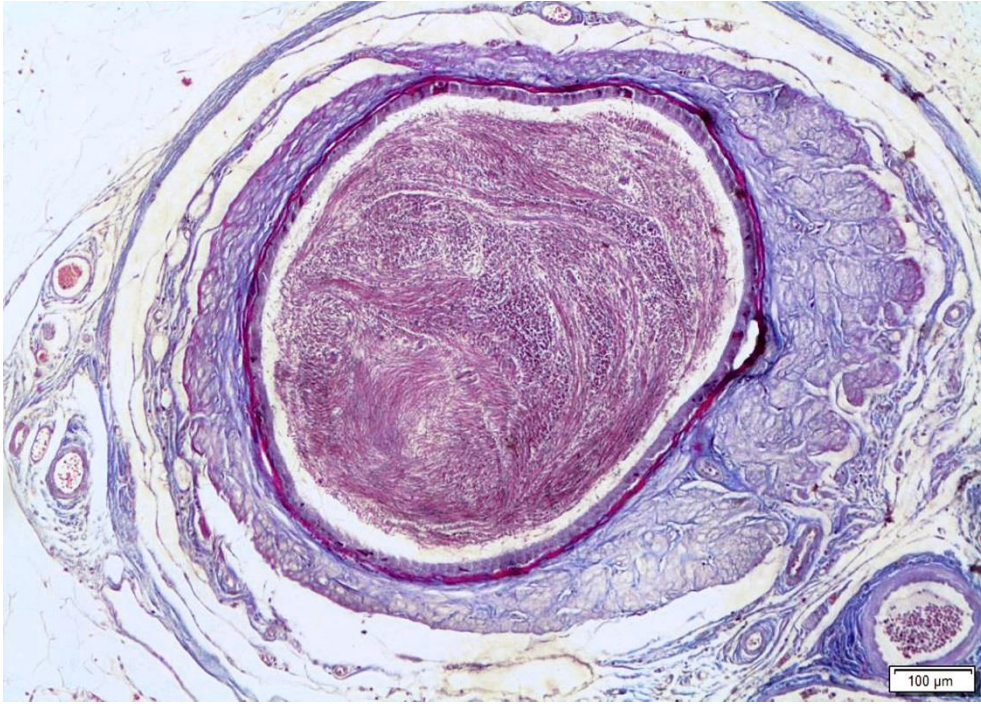


Şekil 4.8: Duktulus efferentis'lerin Grup 1'de görünümü. Triple.



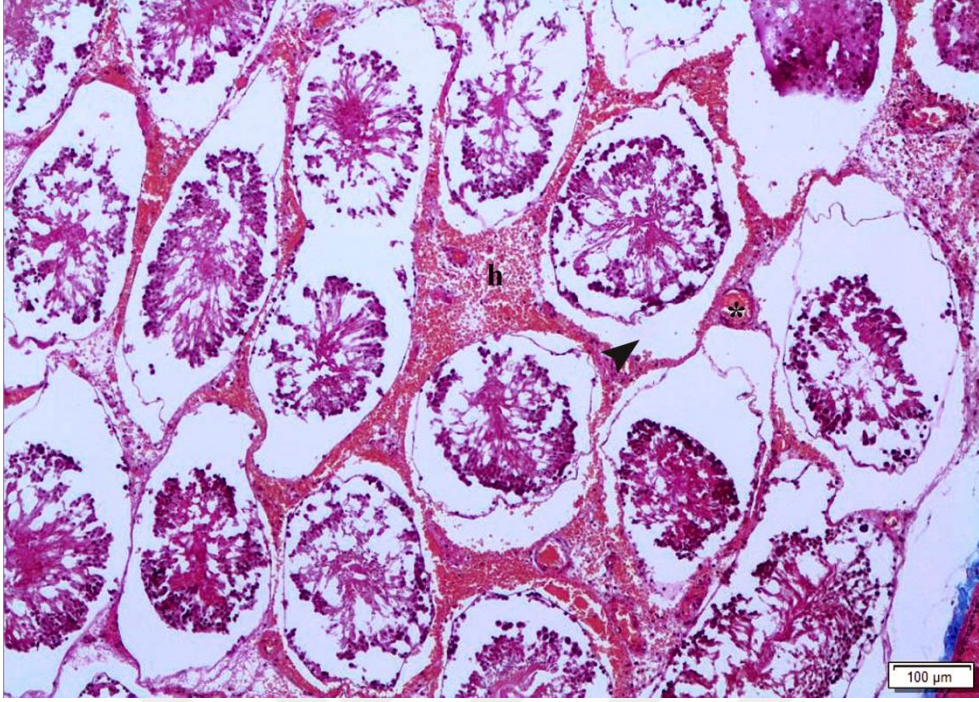


Şekil 4.9: Grup 1'de duktus epididimidis'in görünümü. Triple.

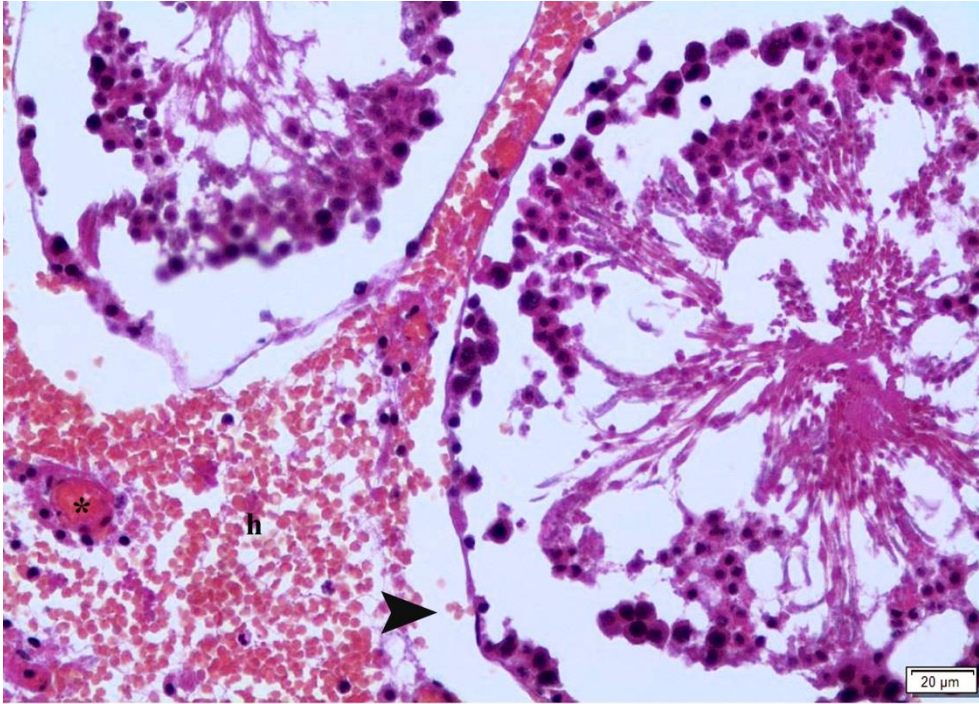


Şekil 4.10: Grup 1'de Duktus deferens'in genel görünümü. Triple.





Şekil 4.11: Grup 2’de rat testisinde bazal membranlarından ayrılan seminifer tubuller (ok başı), interstisyel bağdokusunda yaygın düzeyde hemoraji (h), hiperemi (\*). Triple.

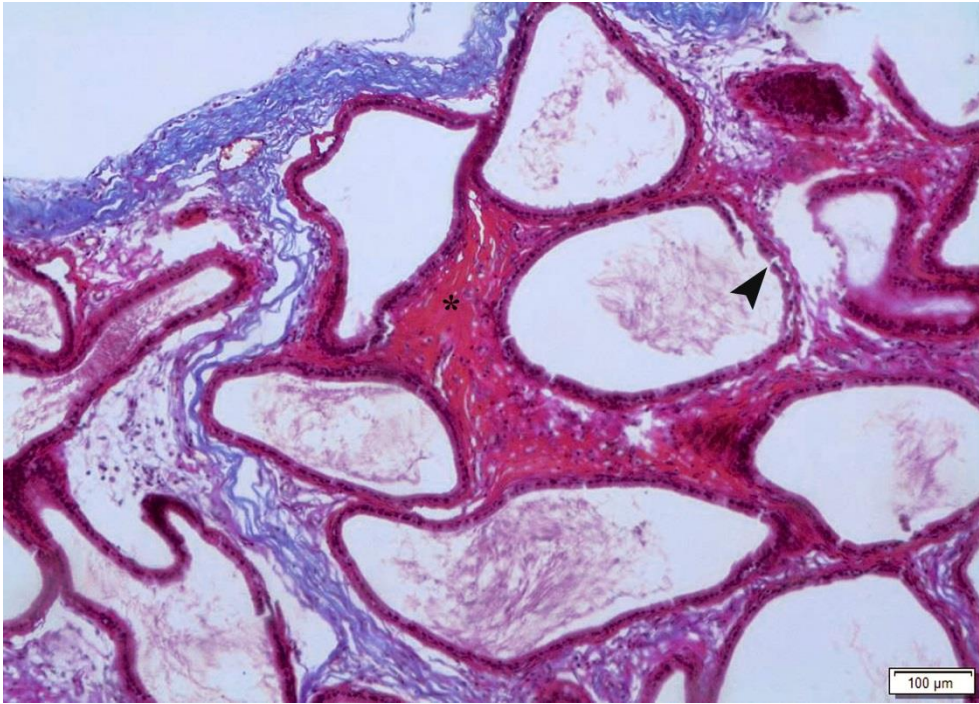


Şekil 4.12: Grup 2’de rat testisinde bazal membranlarından ayrılan seminifer tubuller (ok başı), interstisyel bağdokusunda yaygın düzeyde hemoraji (h), hiperemi (\*). Triple.



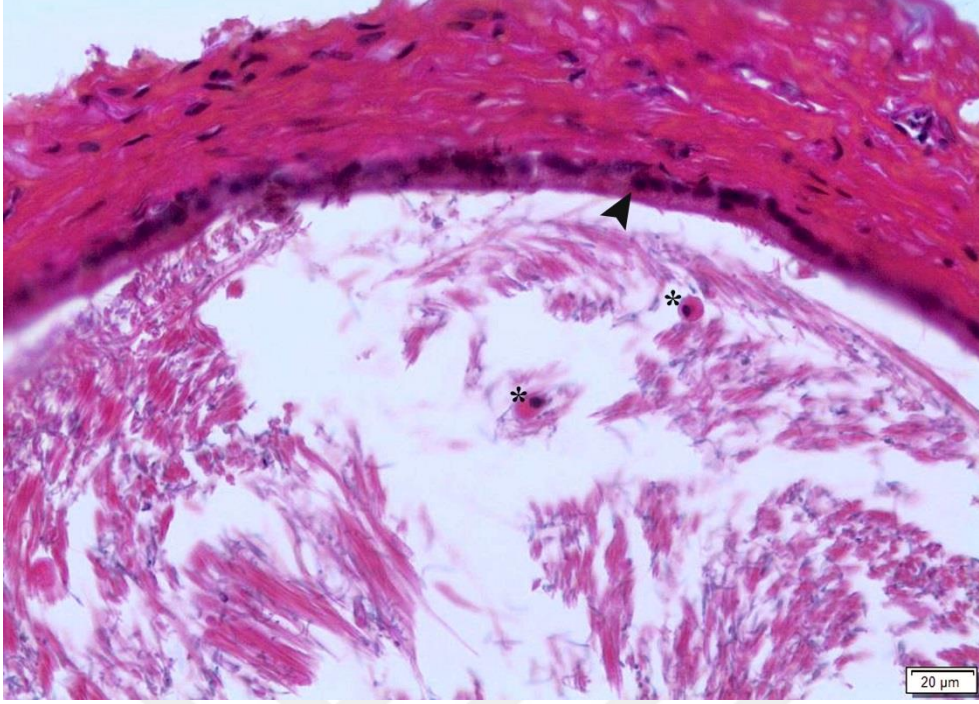


Şekil 4.13: Grup 2’de epididimal kanallarda yapısal bozulma ve hemoraji. Triple.

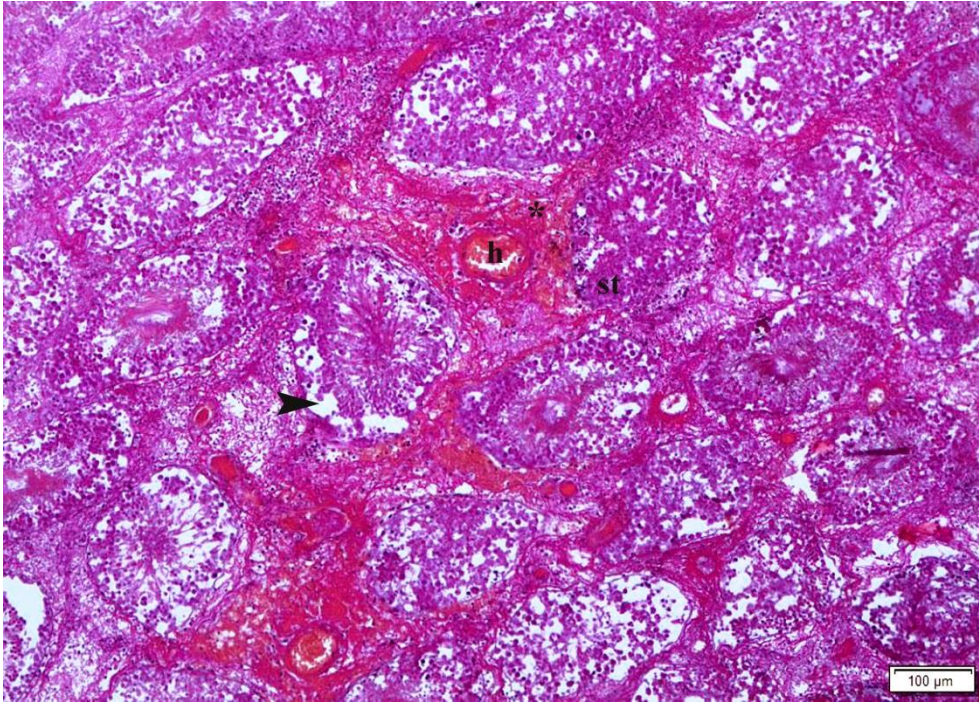


Şekil 4.14: Grup 2’de rat epididimisinde duktulus efferentis’lerin epitel katmanında bozulma (ok başı), hemoraji (\*). Triple.



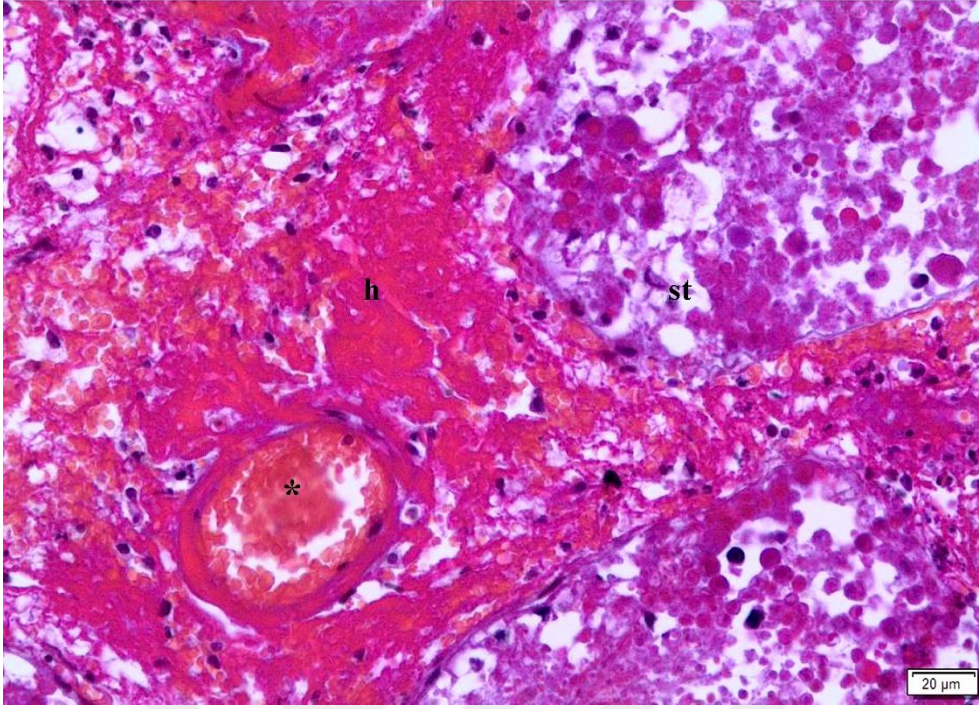


Şekil 4.15: Grup 2’de duktus deferensin görünümü. ok başı: piknotik çekirdek, yıldızlar: spermatidler. Triple.

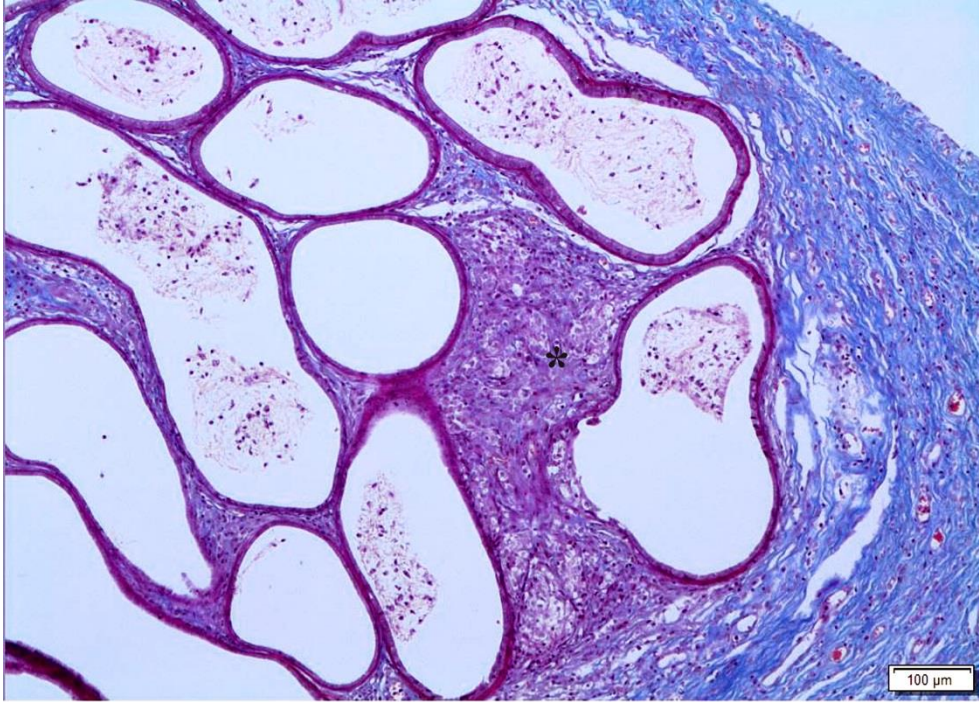


Şekil 4.16: Grup 3’e ait testis dokusunda yapısal bütünlüğünü tamamen kaybeden (ok başı) seminifer tubuller (st), interstisyel bağdokuda hemoraji, h: hiperemi. Triple.



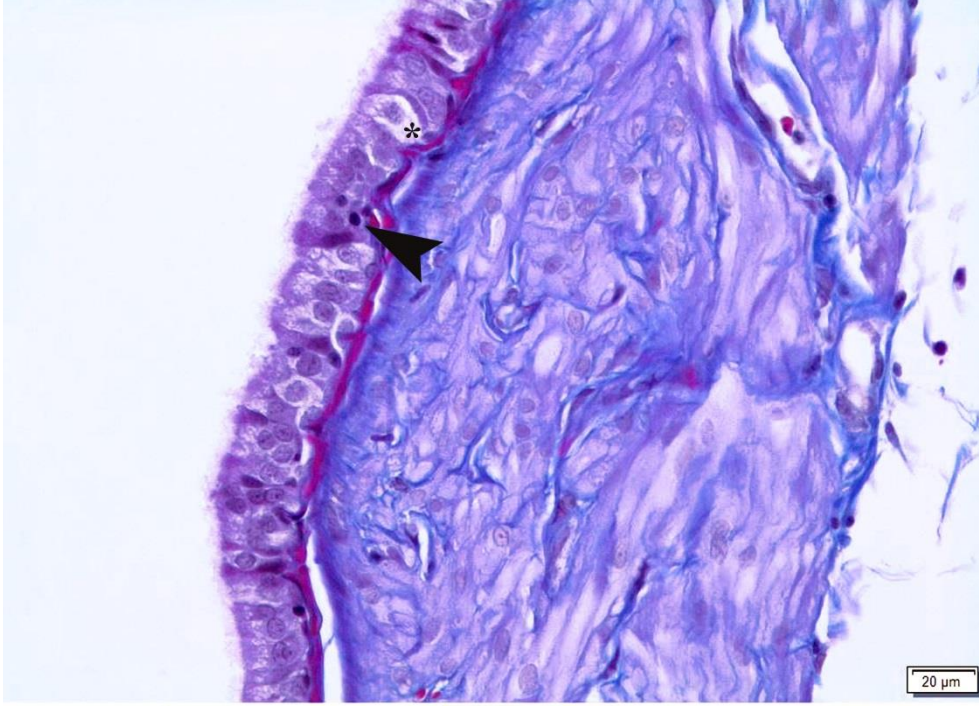


Şekil 4.17: Grup 3'e ait testis dokusunda seminifer tubulün (st) ve interstisyel bağ dokunun (ib) yakın görünümü, h: hemoraji, \*: hiperemi. Triple.

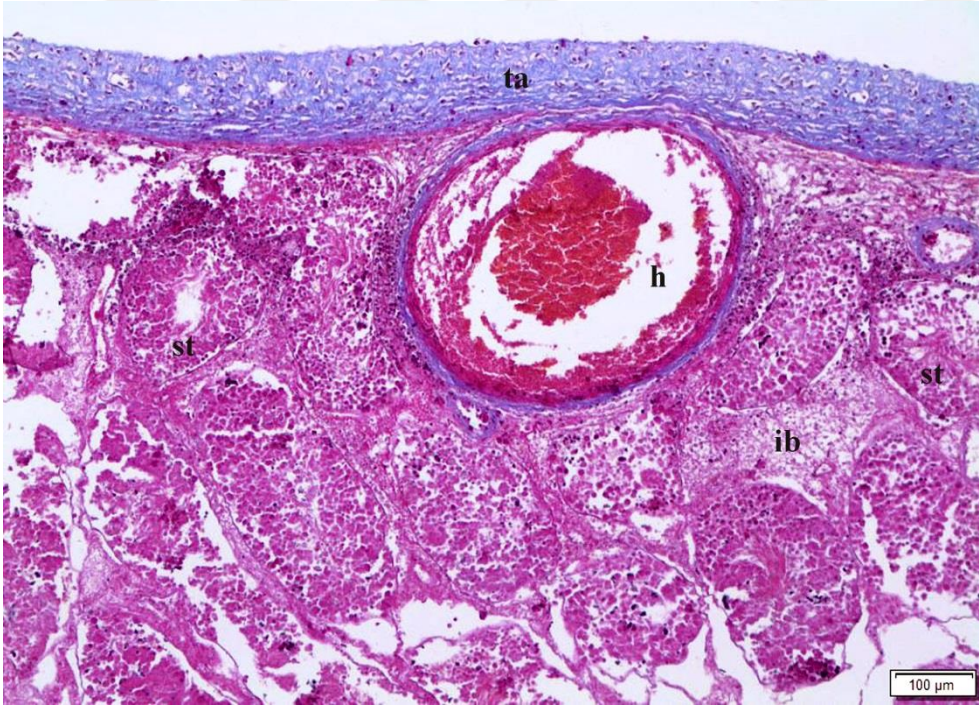


Şekil 4.18: Grup 3'te rat epididimisinde duktulus efferentis'lerin görünümü. Anaplazik yapı (\*). Triple.



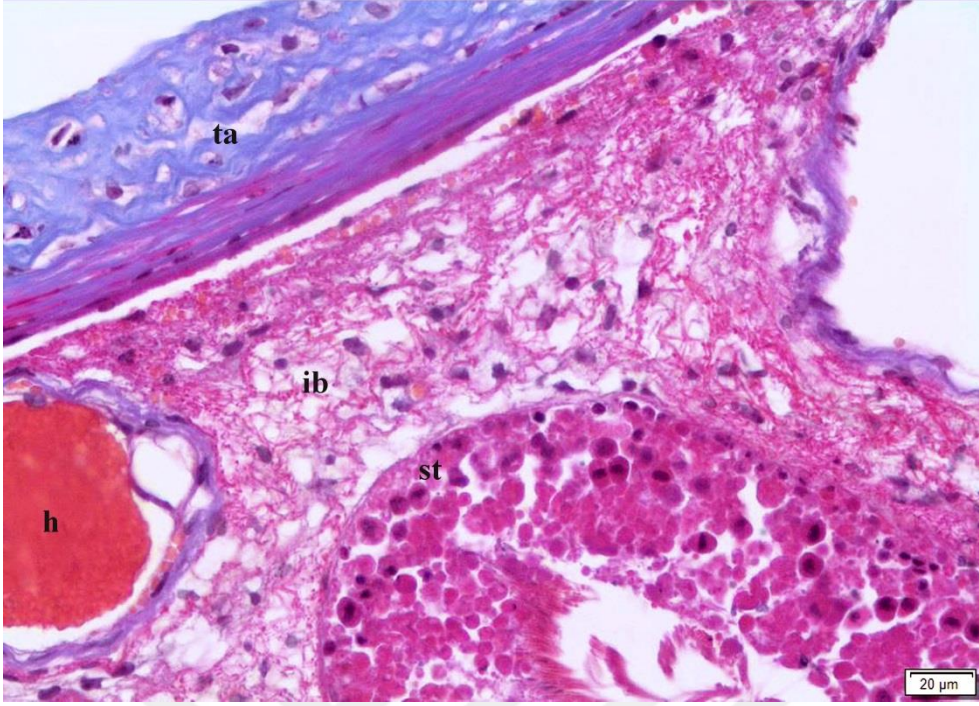


Şekil 4.19: Grup 3'te duktus deferensin görünümü. ok başı: piknotik çekirdek, \*: epitel hücrelerinde hipertrofi. Triple.

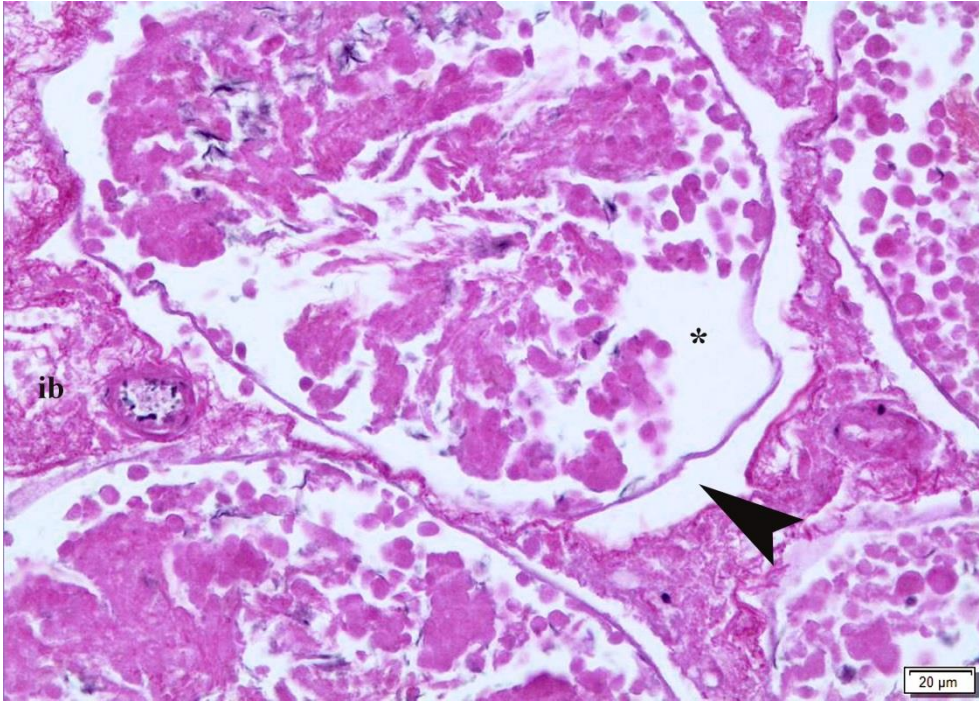


Şekil 4.20: Grup 4'e ait testis dokusunun görünümü. Tunika albuginea'da (ta) kalınlaşma, damarlarda genişleme ve hiperemi (h), interstisyel bağdokusunda (ib) bozulmalar ve displazik yapılar görüldü. st: nekroze olmuş seminifer tubuller. Triple.





Şekil 4.21: Grup 4'e ait testis dokusunda seminifer tubulün (st) ve interstisyel bağ dokunun (ib) yakın görünümü. h: hiperemi. Triple.

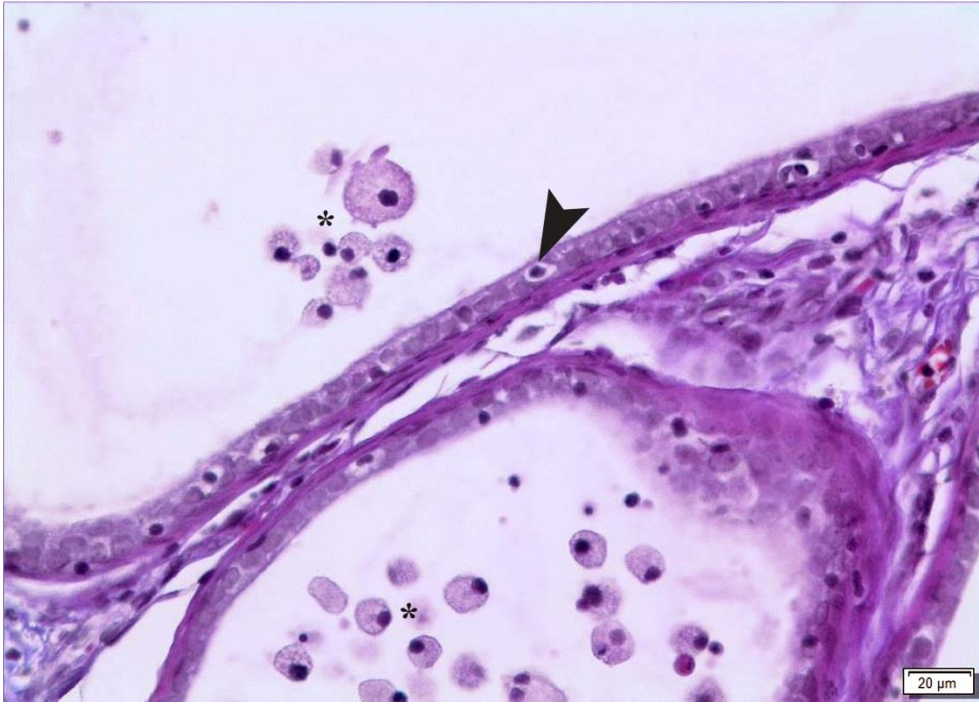


Şekil 4.22: Grup 4'e ait testis dokusunda seminifer tubulün (\*) yakın görünümü. ib: interstisyel bağdoku, ok başı: bazal membranından ayrılan seminifer tubul. Triple.



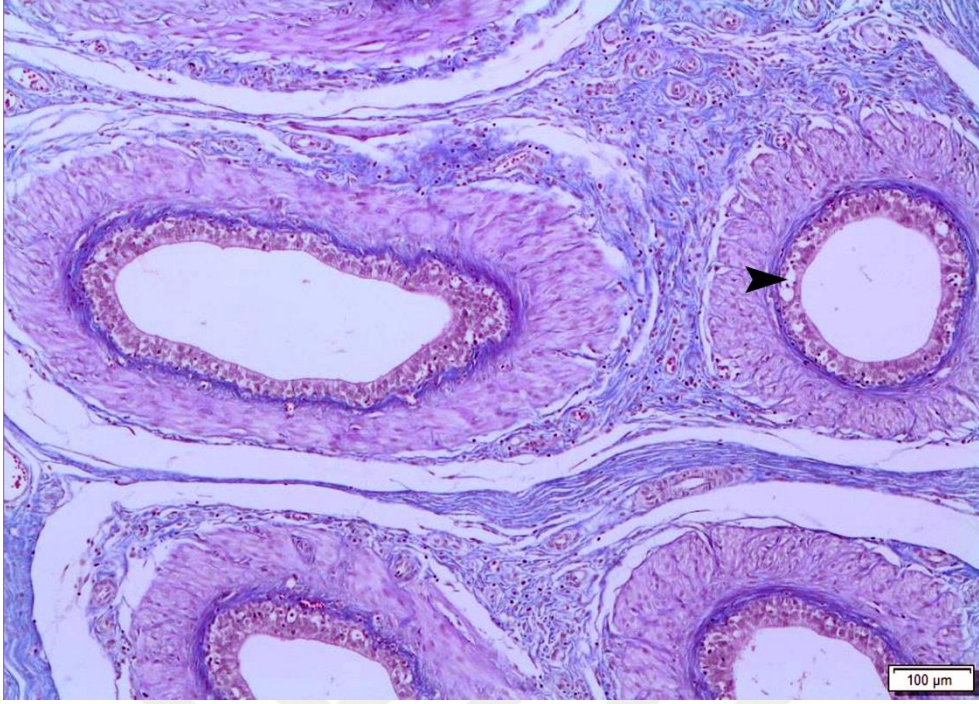


Şekil 4.23: Grup 4'e ait epididimiste kanallar (de) arasında bağ doku ile çevrenmiş anaplazik yapı (\*). Triple.



Şekil 4.24: Grup 4'e ait epididimal kanallarda bazı epitel hücrelerinde hipertrofi ve piknotik çekirdekli hücreler (ok başı), kanal içerisinde çok sayıda olgunlaşmamış eşey hücreleri (\*). Triple.



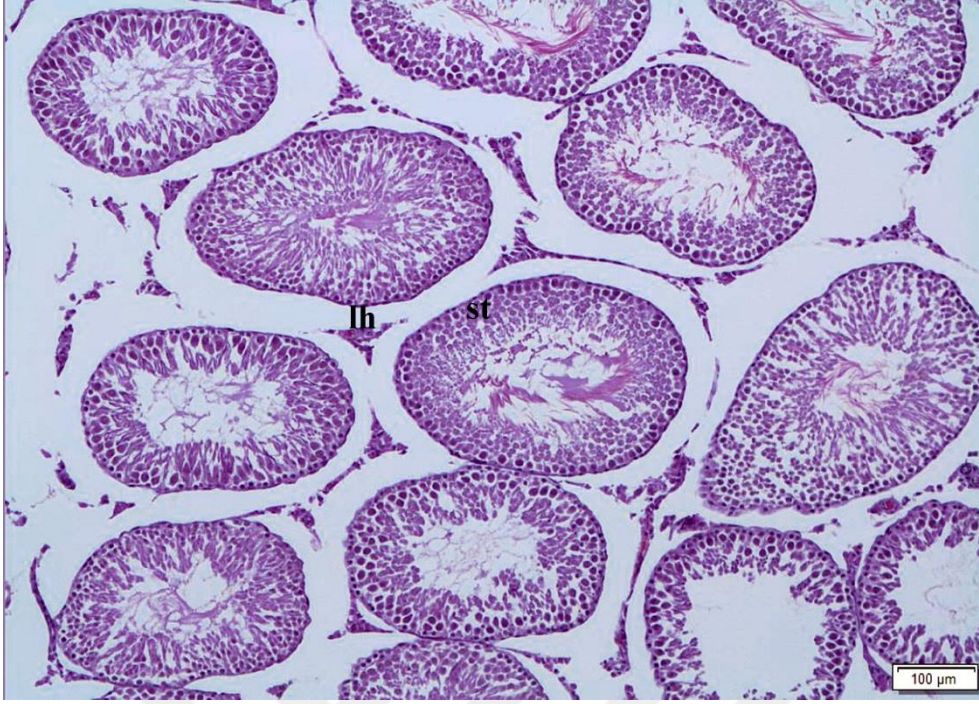


Şekil 4.25: Grup 4'e ait Duktus deferens'e yakın duktus epididimis'lerin histolojik görünümü. ok başı: epitel katmanda hücreler arasında bozulmalar. Triple.

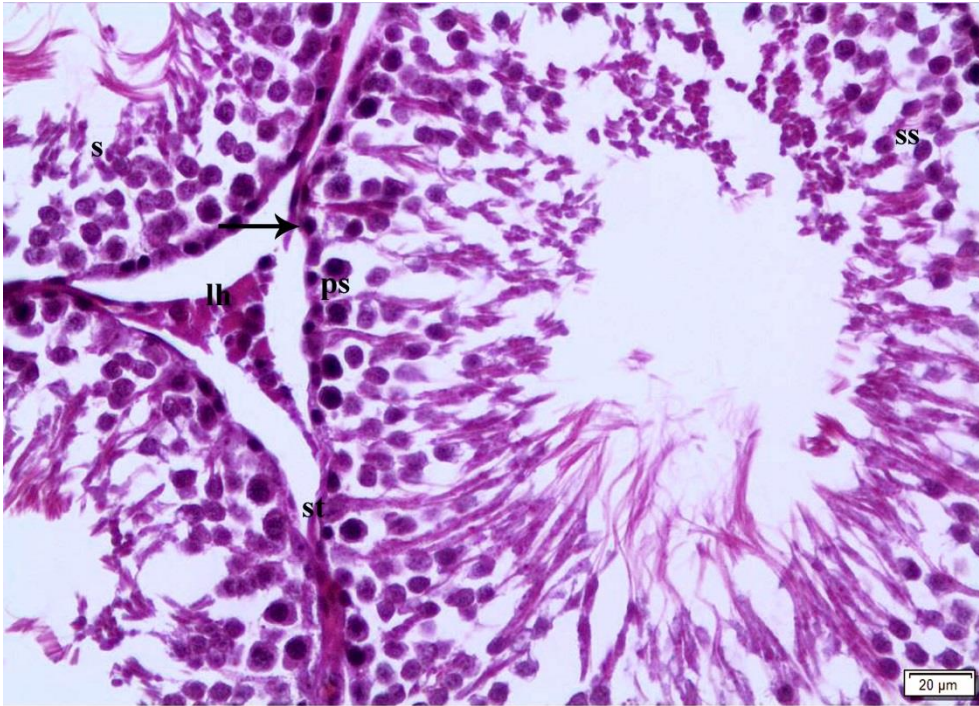


Şekil 4.26: Grup 4'e ait duktus deferens'e ait görüntü. ok: epitel katman ile bazal membran arasında ayrılmalar. Triple.



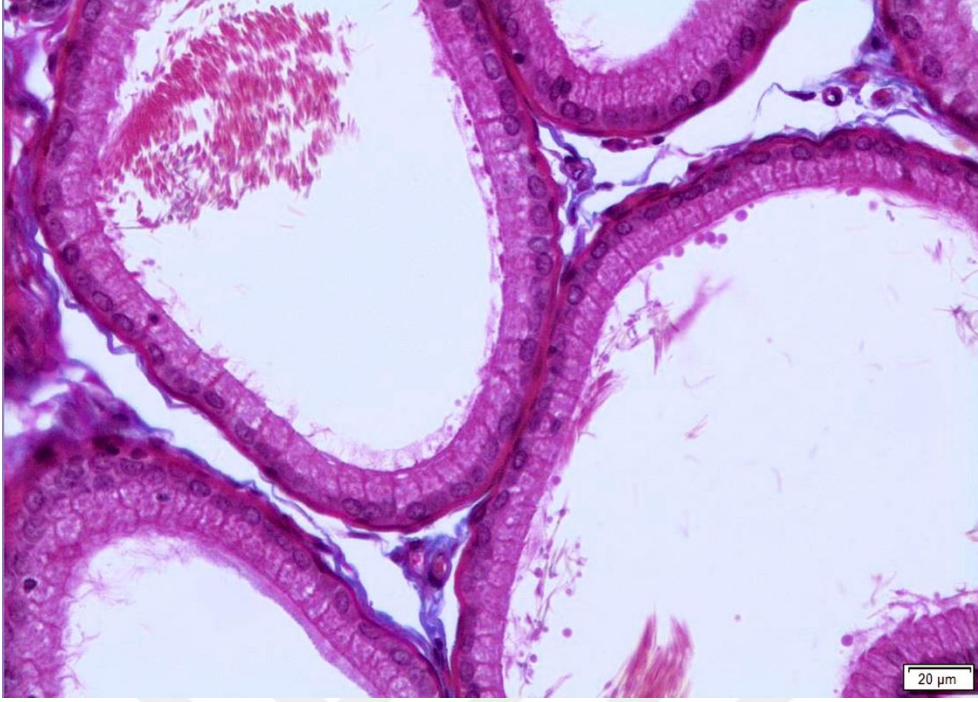


Şekil 4.27: Grup 5'e ait rat testis dokusunun histolojik görünümü. lh: Leydig hücresi, st: seminifer tubul. Triple.

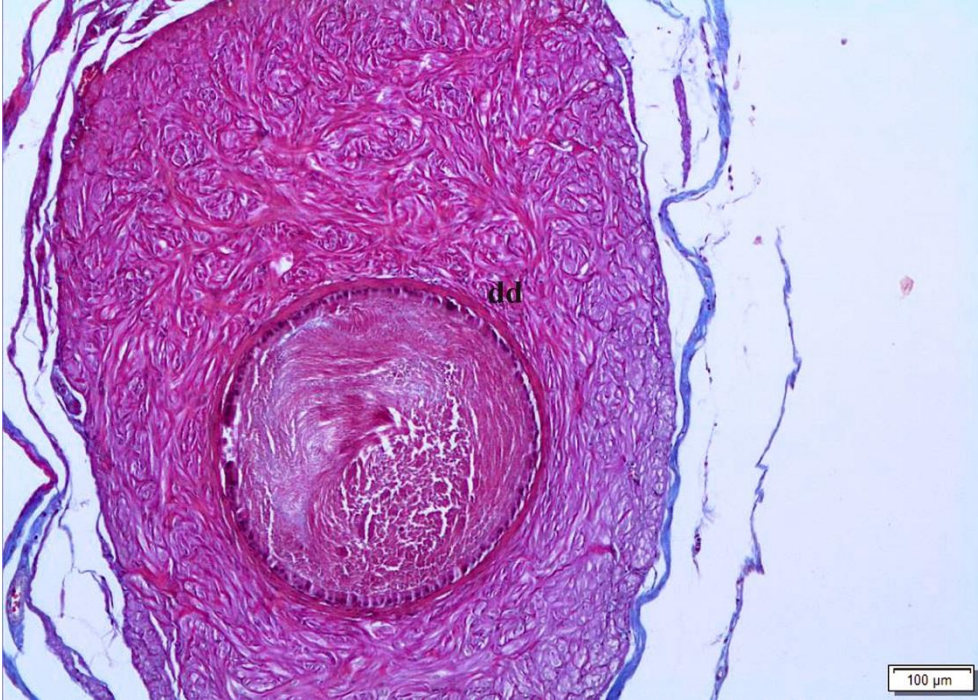


Şekil 4.28: Grup 5'e ait rat testis dokusunda seminifer tubul'ün histolojik görünümü. ps: primer spermatozoid, s: spermatozoid, ss: sekonder spermatozoid, st: Sertoli hücresi, ok: spermatogonyum. Triple.





Şekil 4.29: Grup 5’te duktus epididimidis’in görünümü. Triple.



Şekil 4.30: Grup 5’te Duktus deferens’in genel görünümü. Triple.

## 5. TARTIŞMA

Yapılan çalışmalar incelendiğinde rat testisinde kadmiyumun etkilerini incelemek amacıyla NO ve lipid peroksidasyon ürünü olan MDA analizlerinin testis dokusunda yapılmış olduğu görülmektedir(Fouad ve ark. 2009, Wang ve ark. 2012). Literatür bilgilerinde kan serumundaki nitrik oksidin final ürünleri olan nitrit, nitrata ve nitrit/nitrat oranlarına rastlanmamıştır. Biyolojik sistemlerde nitrik oksit nitrat veya nitrite oksitlenir. Nitratın nitrite indirgenmesinin genellikle kadmiyum gibi kimyasal indirgeyicilerle veya bakteriyel nitrat redüktaz enzimlerle muamele edilmesiyle gerçekleştiği bildirilmektedir (Sun ve ark. 2003). Proinflamatuvar bir mediatör olan NO'nun tek doz intraperitoneal kadmiyum klorid enjeksiyonu (2 mg/kg) yapılan ratların testiküler dokusunda önemli düzeyde arttığı bildirilmektedir (Fouad ve ark. 2009). Kadmiyum klorür uygulanan bir çalışmada (Wang ve ark. 2012) ve kadmiyum sülfat uygulanan diğer bir çalışmada (Ige ve ark. 2012) kadmiyum toksisitesinin testiküler MDA konsantrasyonunu önemli miktarda arttırdığı bildirilmektedir. Yapılan çalışmalar incelendiğinde kadmiyum uygulamasının testiküler dokuda aşırı NO ekspresyonuna sebep olarak yoğun enflamatuvar reaksiyona sebep olduğu görülmektedir. Yüksek düzeyde NO damar genişlemesi ve ödem gibi toksik etkilere sebep olmaktadır(Clancy ve Abramson 1995, Fouad ve ark 2009). Kadmiyuma maruz kalmanın, testiküler dokuda lipid peroksidasyonunda artış, antioksidan savunmasında azalma ve enflamatuvar medyatörlerin üretiminde artış ile ilişkili olduğu bildirilmektedir (Aktas ve ark. 2012, Fouad ve Jresat 2013) Yapılan çalışmada her ne kadar istatistiksel bir farklılık gözükme de Theranekronun kadmiyum 6 güne göre nitrik oksitin oksitlenmesini yavaşlattığı görülmektedir. Kadmiyum 6 gündeki nitrat düzeylerine göre Theranekron+Kadmiyum grubu nitrat düzeyleri yüksek, nitrit düzeyleri ise değişmemiştir. Bu bulgular theranekronun kadmiyumun nitrati nitrite indirgeyici etkisini azalttığı düşüncesini akla getirmektedir. Theranekron ile ilgili çalışmalar incelendiğinde MDA ve NO düzeylerini inceleyen bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Rat testis dokusunda kadmiyumun etkilerini incelemek için yapılan çalışmaların çoğunda sperm sayımı ya da sperm kalitesine bakılmadığı, bazılarında sperm sayımı ve motilitesi yapıp sperm anomalisine bakılmadığı (Wang ve ark. 2012, Asadi ve ark. 2014),bazılarında ise sperm sayımı yapılırken sperm anomalileri yönünden sadece total

sperm kalitesinin ölçüldüğü görülmektedir (Ige ve ark. 2013). Çalışmamızda uygulanan kadmiyum dozunu deneyen diğer çalışmalar incelendiğinde sperm sayımı ve sperm kalitesi açısından yapılan bir çalışmaya rastlanmamıştır. Theranekron ile ilgili yapılmış çalışmalar incelendiği zaman testis dokusu ile ilgili herhangi bir literatüre rastlanmamıştır. Dolayısıyla sperm kalitesi ve sperm yoğunluğu üzerine bir etkisi olup olmadığı da bilinmemektedir. Bu tez çalışmasında hem sperm sayımları yapılarak gruplar arasında karşılaştırmalar yapılmıştır, hem de belirgin düzeyde gözlenen morfolojik anomaliler saptanarak gerek total gerekse baş, kuyruk ve distal sitoplazmik anomalilerin gruplar arası karşılaştırması yapılmıştır.

Yapılan çalışmada, kontrol grubu ile diğer gruplar arasında sperm sayımları bakımından bir karşılaştırma yapıldığında istatistiksel olarak en çok azalmanın Kadmiyum+Theranekron grubunda olduğu görülmektedir. Theranekron grubunda ise istatistiksel olarak sperm yoğunluğu etkilenmemiş gibi görülmekte kontrol grubuyla karşılaştırıldığı zaman sperm miktarında, kadmiyum 24 saat grubundaki gibi düşüş yaşandığı görülmektedir. Bu bulgular doğrultusunda Theranekronun kadmiyum ile birlikte verilmesi kadmiyumun hasar verici etkisini azaltmamaktadır. Bu durumun tam aksine kadmiyumun hasar verici etkisini artırdığı görülmektedir.

Sperm morfolojisi açısından gruplar incelendiğinde ise kadmiyum 6 gün grubu ile Kadmiyum+Theranekron gruplarında anomali düzeyi, kontrol grubuna göre çok yüksek düzeyde çıkmaktadır. Theranekron grubunun sperm yoğunluğunda da görüldüğü gibi kadmiyumun testislerde oluşturduğu hasarı gidermediği bunun tam tersine anomali sperm miktarını artırdığı görülmektedir. Theranekron grubu incelendiğinde ise Theranekron grubunun istatistiksel açıdan kontrol grubu ile bir fark göstermediği ancak kadmiyum 24 saat grubunda gözlenen morfolojik bozukluklarla benzer istatistiksel sonuçlar verdiği görülmektedir.

Kadmiyum çalışmalarında sperm sayımı ve total sperm kalitesinin ölçüldüğü çalışmalardaki sonuçlar bu çalışmadaki bulgularla karşılaştırıldığında, intraperitoneal yolla 3 gün boyunca 0.3 mg/kg kadmiyum sülfat uygulanan ratlarda sperm sayısında ve sperm morfolojisinde önemli bir azalma olduğu bildirilmektedir (Ige ve ark. 2013). Asadi ve ark. (2014)'nın yaptığı bir çalışmada 48 saat ara ile 16 gün boyunca 1 mg/kg intraperitoneal yolla uygulanan kadmiyum klorürün sperm sayısında önemli ölçüde azalmaya neden olduğundan bahsedilmektedir (Asadi ve ark. 2014). Wang ve ark. (2012) 5 hafta boyunca

subkutan yolla günde bir kez 0,4 mg/kg kadmiyum klorür uygulandığında, kadmiyum toksisitesinin epididimal sperm konsantrasyonunda önemli bir azalmaya sebep olduğundan söz etmektedirler. Bu durumda her ne kadar dozlarda, uygulama sürelerinde yöntemlerinde farklılık bulunsa da sonuçların benzerlik gösterdiği söylenebilir.

Daha önce yapılan çalışmalara bakıldığında, çalışmalarda uygulanan kadmiyum dozlarının ve uygulama yöntemlerinin çok çeşitlilik gösterdiği görülmektedir (Fende ve Niewenhuis 1977, Robert 1980, Thompson ve Bannigan 2008, Wang ve ark. 2012). Doz ve uygulama yöntemi açısından bakıldığında El-Ashmawy ve ark. (1999)'nın, çalışmada uygulanan doz ile aynı dozu uyguladığı, kadmiyum klorürün 7mg/kg sc şeklinde uygulanarak, 1 gün sonra ratların kesilip incelendiği görülmektedir. Testislerin şiştiği ve renklerinin koyu kırmızı ya da siyah olduğu bildirilmektedir. Belirgin testiküler ödem ve hemoraji gözlemlendiğinden bahsedilmektedir. Çalışmada elde edilen bulgularla karşılaştırıldığında elde edilen bulguların benzerlik gösterdiği görülmektedir. Bununla birlikte literatürler incelendiğinde 6 gün sonraki etkilerini gözlemleyen bir çalışmaya rastlanmamıştır. Yapılan tez çalışmasında testis ve epididimiste akut nekroz şekillendirebilmek için 7mg/kg s.c. doz şeklinde verilmiştir.

Tarantula cubensis'in ekstraktı olan Theranekron homeopatik bir ilaçtır ve veteriner hekimlikte kullanılmaktadır (Kaçar ve ark.2007). Yapılan çalışmalar genellikle bazı hayvanlarda ağız ve diş etindeki yaraları iyileştirdiği (Lotfollahzadeh ve ark. 2012), bazılarında yaraların etrafında ve kanda ilthaplanma durumunu azalttığı, zarar gören tendonları tedavi sürecini hızlandırdığı gibi iyileştirici özelliklerinden bahsedilmektedir (Oryan ve ark. 2012a, Oryan ve ark. 2012b). Aynı zamanda Theranekron ile ilgili tüm çalışmalara bakıldığında genel olarak histolojik ya da histopatolojik yönden çok az inceleme yapıldığı görülmektedir. Bu çalışmalar, rat tendon yaralanması ile ilgili iki çalışma (Oryan ve ark. 2012a, Oryan ve ark. 2012b), Icen ve ark. (2011) tarafından yapılan kanin oral papillomatöz çalışması, Veiga ve ark. (2000)'nın bazal membran yapıları üzerine kahverengi örümcek zehirinin etkisi ile ilgili çalışması ve Dolapcioglu ve ark. (2013)'nin ratlarda yapmış olduğu endometriyozis çalışmasıdır. Çalışmada 6. Günde de kadmiyuma bakmamızın nedeni Theranekronun etki süresinin prospektüste 5 gün olarak verilmesidir. Homeopatik bir ilaç olarak bildirilen Theranekron, kadmiyum uygulamasını takiben 24. saatte yani nekroz oluşuktan sonra verilerek, kadmiyumun oluşturacağı hasarlar üzerine

olumlu ya da olumsuz ne tür etkileri olacağı incelenmiştir. Aynı zamanda Theranekronun henüz tam bilinmeyen yan etkileri de gözlenmeye çalışılmıştır.

Kadmiyum klorid uygulamasının, daha önce yapılmış olan çalışmalarda bildirildiği biçimde testis ve epididimiste dejeneratif değişikliklere neden olduğu gözlemlendi (Çolakoğlu ve ark. 2011). Kadmiyum 24 saat grubu ile kadmiyum 6 gün grubu karşılaştırıldığında, kadmiyum 24 saat ile kadmiyum 6 gün grubunun her ikisinde de dejeneratif bozukluklara rastlanmakla birlikte, süre geçtikçe histolojik açıdan bozukluğun daha yaygın bir biçim aldığı, ayrıca epididimal kanallar arasında anaplazik yapıların şekillendiği saptandı.

Kadmiyum+Theranekron grubuna ait doku kesitleri incelendiğinde interstisyel bağdokusunda bozulmalar ve hiperemi görüldü, hemorajiye rastlanmadı. Seminifer tubullerin bazal membranından ayrıldığı ve yapısal bütünlüğünün bozulduğu saptandı. Leydig hücrelerinde bozulma görüldü. Testisteki damarlarda hiperemi gözlemlendi. Epididimis kanallarının genel olarak yapısal bütünlüğünü koruduğu söylenebilirdi bazı kısımlarda yer yer epitel hücrelerinde şişme olduğu gözlemlendi, piknotik çekirdekli hücelere rastlandı. Kanallar içerisinde spermatid görüldü ve epitel katman ile bazal membran arasında ayrılmalar saptandı. Bu bozukluklara rastlanması nedeniyle kadmiyum klorid uygulanan deneklerde Theranekron uygulamasının beklenen doku iyileşmesini sağlamadığı gözlenmektedir. Bununla birlikte kadmiyum 6 gün uygulamasında görülen anaplazik yapıların, Kadmiyum+Theranekron grubunda gene görülmekle birlikte bağ doku ile sınırlandırılmış biçimde gözlenmesi Theranekron ile yapılan çalışmalarda daha önceden de bildirildiği biçimde (Kaçar ve ark. 2007) Theranekronun tümörü çevreleyen dokuda demarkatif etkisini ortaya koyduğunu düşündürmektedir.

Tek başına Theranekron uygulamasında isetestis ve epididimis kanallarının normal yapılarını korudukları, seminifer tübüllerde, spermatogenik hücrelerde, Sertoli hücrelerinde, Leydig hücrelerinde ve epididimal kanallarda histolojik açıdan herhangi bir yapısal bozukluğa, infiltrasyona ya da hemorajiye rastlanılmadığı görülmektedir.

Yapılan çalışmalar incelendiğinde her ne kadar reproduktif organlarla ilgili ayrıntılı bir çalışmaya rastlanmamış olsa da, Theranekronun bazı hayvanlarda ağız ve diş etindeki yaraları iyileştirdiği (Lotfollahzadeh ve ark. 2012), bazılarında da yaraların etrafında ve kanda ilthaplanma durumunu azalttığı, zarar gören tendonları tedavi sürecini hızlandırdığı gibi iyileştirici özelliklerinden basedilmektedir (Oryan ve ark. 2012a, Oryan ve ark. 2012b). Ancak kadmiyum ile birlikte Theranekron uygulandığında elde edilen bulgular

diğer çalışmalarda bildirilen bu özelliklerini, rat testis dokusunda yansıtmamaktadır. Tarantula cubensis ekstraktı olan theranekron'un homeopatik amaçlı kullanıldığı bazı kaynaklarda bildirilmektedir (Kaçar 2007). Homeopatik ilaçlar üzerinde yapılan çalışmalarda Theranekronun bu ilaç grubuna dahil edildiği görülmüş ve deney sonuçlarında Theranekronun tümör oluşumunu belirli ölçüde yavaşlattığı bildirilmiştir (Özyurtlu 2007).



## 6. SONUÇ

Literatür taramamıza göre ratlarda theranekronun sağlıklı ve kadmiyum uygulanarak hasar oluşturulmuş testis ve epididimis üzerine etkisi üzerine yapılan ilk araştırma olan bu çalışmamızda, Theranekronun histolojik açıdan sağlıklı doku üzerine görünürde herhangi bir etkisi yokmuş gibi gözükse de anomalili sperm miktarında ciddi anlamda artışa sebep olduğu sonucuna ulaşılabilir. Kadmiyum ile birlikte Theranekron uygulandığında ise hemorajinin azalması, anaplazik yapıların bağ doku tarafından sınırlandırılmış olması olumlu özellikler olarak karşımıza çıksa da, sperm miktarının ciddi anlamda düşmesi, sperm anomalisinin ciddi düzeyde artması ve hem testis hem de epididimiste histolojik yapı bütünlüğünün sadece kadmiyum uygulanan deneklerdeki kadar hasarlı olması theranekronun beklenen doku iyileşmesini sağlamadığını düşündürmektedir.

Çalışmada elde edilen bulgular değerlendirilirken benzer nitelikte çalışmaya rastlanmadığından, karşılaştırmalarsadece literatürde bulunan kadmiyum ve kontrol grupları ile yapılabilmektedir. Çalışmanın bulguları genel anlamda da literatür ile uyum göstermiştir. Diğer değerlendirmeler çalışmada yer alan gruplar arasında yapılmıştır.

Theranekron Tarantula Cubensis'in piyasada bulunan tek hazır preperatıdır. Theranekron'un ratlarda uygulama dozu hesaplanırken, firmanın prospektüsünde yer alan ve diğer hayvanlar için verilmiş olan dozlara bakılarak canlı ağırlık bazında hesaplanmış ve aynı zamanda Theranekron ile ilgili tüm çalışmalara bakıldığında ratlarda yapılan tek çalışmanın Dolapcioglu ve ark.'nın (2013) yaptığı çalışma olduğu görülerek çalışmada kullanılan doz, tezde kullanılan ratlarda uygulanmıştır. Theranekron'un dozu ve uygulanma biçimi nedeniyle bu sonuçlar elde edilmiş olabileceğinden, değişik doz ve uygulama yolları farklı sonuçları oluşturabileceği akla gelmektedir. Bu nedenle theranekron ile ilgili yapılacak başka çalışmalarla daha ayrıntılı sonuçlar elde edilebilir ve aynı alanda yapılması muhtemel yeni çalışmalara ışık tutabilir.

## 7. KAYNAKLAR

1. **Adams RG.** Manufacturing process, resultant risk profiles and their control in the production of nickel-cadmium (alkaline) batteries. *Occup Med*, **1992**, 42: 101-6
2. **Aktas C, Kanter M, Erboga M, Ozturk S.** Anti-apoptotic effects of curcumin on cadmium-induced apoptosis in rat testes. *Toxicol Ind Health*, **2012**, 28: 122-130
3. **Asadi MH, Zafari F, Sarveazad A, Abbasi M, Safa M ve ark.** Saffron Improves Epididymal Sperm Parameters in Rats Exposed to Cadmium. *Nephrourol Mon.* **2014**, 6(1): 12-125
4. **Bayraktaroğlu AG,** *Deneklerin Histolojik Özellikleri Bunların Deneysel Çalışmalarda Sınırlayıcı Yönleri.* Editör:Orhan Yücel. Journal of Clinical Analytical Medicine. Derman Tıbbi Yayıncılık. Ankara,(Electronic Journal) **2012**, 33-38. Erişim: <http://www.jcam.com.tr/>
5. **Boğa A.** *Ağır Metallerin Özellikleri ve Etki Yolları* (Electronic Journal), Arşiv, **2007**, 16:218,<http://cukurovatip.cu.edu.tr/>
6. **Brackett BG.** Memelilerde Üreme: Erkek Üreme Fizyolojisi Editör:Reece WO, In: *Dukes Veteriner Fizyoloji*, 12. Baskı, Çeviri Editörü: Sedat Yıldız. **2008**, Medipres Matbaacılık Ltd. Şti., Malatya.s. 657-676
7. **Chen J, Fok KL, Chen H, Zhang XH, Xu WM ve ark.** Cryptorchidism-induced CFTR down-regulation results in disruption of testicular tight junctions through up-regulation of NF-κB/ COX-2/PGE2. *Hum Reprod.* **2012**, 27: 2585-2597
8. **Clancy RM, Abramson SB.** Nitric oxide: a novel mediator of inflammation. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **1995**, 10, 93-101
9. **Çolakoğlu N, Kükner A, Ozan E, Kara H, Koyutürk L ve ark.** Sıçan Testis Dokusunda Kadmiyum Klorür'ün Oluşturduğu Yapısal Değişiklikler ve Bu Değişiklikler Üzerine Metallothionein'in Etkileri. *Elektron Mikroskopik Çalışma, F.Ü.Sağ.Bil.Tıp Derg.* **2011**, 25 (1): 05 - 09
10. **Çoyan K, Ataman MB, Kaya A, Karaca F.** *Evcil Hayvanlarda Dölerme ve Sun'i Tohumlama.* Editör, Çoyan K, Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayın Ünitesi, Konya, **2002**, s. 27-38
11. **Denk H, Künzle H, Plenck H, Rüschoff J, Sellner W.** *Romeis Mikroskopische Technik.* 17, Neubearbeitete Auflage, Urban und Schwarzenberg, München, **1989**, s. 439-450
12. **Din WS, Frazier JM.** Protective effect of metallothionein on cadmium toxicity in isolated rat hepatocytes. *Biochem J*, **1985**, 230: 395-402
13. **Dolapcioglu K, Dogruer G, Ozsoy S, Ergun Y, Ciftci S ve ark.** Theranekron for treatment of endometriosis in a rat model compared with medroxyprogesterone acetate and leuprolide acetate. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*, **2013**, 170: 206-210
14. **El-Ashmawy IM, Youssef SA.** The Antagonistic Effect of Chlorpromazine on Cadmium Toxicity. *Toxicol. Appl. Pharmacol*, **1999**, 161: 34-39
15. **Elinder CG, Edling C, Lindberg E, Kagedal B, Vesterberg O.** Assessment of renal function in workers previously exposed to cadmium. *Br J Ind Med*, **1985**, 42: 754-60
16. **Erdemir F, Fırat F, Gençten Y.** Sperm morfolojisinin değerlendirilmesi ve klinik önemi. *Turk Urol Sem*, **2011**, 2(15): 11-7
17. **Farombi EO, Adedara IA, Akinrinde SA, Ojo OO, Eboh AS.** Protective effects of kolaviron and quercetin on cadmium-induced testicular damage and endocrine pathology in rats. *Andrologia*, **2012**, 44: 273-284
18. **Fende PL, Niewenhuis RJ.** An Electron Microscopic Study of the Effects of Cadmium Chloride on Cryptorchid Testes of the Rat. *Biology of Reproduction*, **1977**, 16: 298-305
19. **Fouad AA, Qureshi HA, Al-Sultan AI, Yacoubi MT, Ali AA.** Protective effect of hemin against cadmium-induced testicular damage in rats. *Toxicology*, **2009**, 257:153-160
20. **Fouad AA, Jresat I.** Captopril and telmisartan treatments attenuate cadmium-induced testicular toxicity in rats. *Fundam Clin Pharmacol*, **2013**, 27: 152-160
21. **Fouad AA, Albuali WH, Jresat I.** Simvastatin Treatment Ameliorates Injury of Rat Testes Induced by Cadmium Toxicity. *Biol Trace Elem Res*, **2013**, 153: 269-278
22. **Girgin A, Alabay B, Liman N, Özfiliz N, Gülmez N ve ark.** *Veteriner Özel Histoloji.* Editör: Prof. Dr. Aytekin Özer, Nobel Yayın Dağıtım, 1. Baskı, Kasım **2008**
23. **Goyer RA, Clarkson TW.** Toxic effects of metals. In: Klaassen CD (ed) Casarett and Doull's toxicology: the basic science of poisons. *McGraw-Hill, New York*, **2001**, s. 811-867
24. **Hassa O ve Aştı R.** *Embriyoloji.* Yorum Basın Yayın Sanayi Ltd. Şti., Ankara, **2010**
25. **Hebel, R, Stromberg, MW.** *Anatomy and Embryology of the laboratory Rat.* Woerthsee: Bio Med Verlag, **1986**



26. **Hughes R, Dake JP.** *A cyclopedia of drug pathogenesis.* B. Jain Publisher, n. d, New Delhi, **1891**
27. **Industrial Reproductive Toxicology Discussion Group (IRDG), Computer Assisted Sperm Analysis(CASA)Group.** Rat Sperm Morphological Assessment,*Guideline Document, Edition 1 October 2000.* ([http://www.irdg.co.uk/IRDG\\_sperm-morphology.doc](http://www.irdg.co.uk/IRDG_sperm-morphology.doc))
28. **Icen H, Sekin S, Simsek A, Kochan A, Tunik S.** The efficacy of Tarantula cubensis extract (Theranekron) in treatment of canin oral papillomatosis. *Asian Journal of Animal and Veterinary Advances*, **2011**, 6(7): 744-749
29. **Ige SF, Olaleye SB, Akhigbe RE, Akanbi TA, Oyekunle OA ve ark.** Testicular toxicity and sperm quality following cadmium exposure in rats: Ameliorative potentials of Allium cepa. *J Hum Reprod Sci.*, Jan-Apr, **2012**, 5(1): 37-42
30. **Jamall IS, Smith JC.** Effects of cadmium on glutathione peroxidase, superoxide dismutase, and lipid peroxidation in the rat heart: a possible mechanism of cadmium cardiotoxicity. *Toxicol Appl Pharmacol*, **1985**, 80: 33-42.
31. **Kaçar C, Zonturlu AK, Oral H, Yıldız S, Arı UÇ.** İneklerde Erken Puerperal Dönemde Theranekron Uygulamalarının Uterus İnvolyasyonu ve Vaginal Akıntı Üzerine Etkisi. *Kafkas Üniv Vet Fak Derg*, **2007**, 13(1): 11-15
32. **Khan, AA, Zaidi, MT, Faruqi, NA.** Ductus Deferens, A Comparative Histology in Mammals. *J Anat Soc India*, **2003**, 52(2): 163-165
33. **Kierszenbaum A.** *Histoloji ve Hücre Biyolojisi.* Çeviri editörü: Ramazan Demir. Palme Yayıncılık, Ankara, **2006**, s. 531-550
34. **Koch VH, Stein M.** Konservative und chirurgische behanlung von panaritien des rindes mitverwendung von theranekron. *Der Prakt Tierarzt*, **1980**, 61: 116-7
35. **Linder RE, Strader LF, Slott VL, Suarez JD.** Endpoints of spermatotoxicity in the rat after short duration exposures to fourteen reproductive toxicants. *Reprod Toxicol*, **1992**, 6: 491-505
36. **Lotfollahzadeh S, Alizadeh RM, Mohri M, Dezfoulii MRM.** The therapeutic effect of Tarentula cubensis extract (Theranekron) in foot-and-mouth disease in cattle: a randomised trial in an endemic setting. *The Faculty of Homeopathy*, **2012**, 101: 159-164
37. **Mason KE, Brown JA, James O. Young, Robert R.** Cadmium-induced Injury of the Rat Testis. *Anat. Rec.*, **1964**, 149: 135-148
38. **McGeady TA, Quinn PJ, FitzPatrick ES, Ryan MT.** *Veteriner Embriyoloji*, Çevirenler: İlhami Çelik, Yasemin Öznurlu, Medipres yayıncılık, Malatya, **2011**, s. 255-262
39. **McKeever S.** *Male reproductive organs.* In: Hafez, ESE, editor. Reproduction and breeding techniques for laboratory animals. Philadelphia: Lea & Febiger, **1970**, p. 28-73
40. **Ognjanović BI, Marković SD, Ethordević NZ, Trbojević IS, Stajn AS ve ark.** Cadmium-induced lipid peroxidation and changes in antioxidant defense system in the rat testes: protective role of coenzyme Q(10) and vitamin E. *Reprod Toxicol*, **2010**, 29:191-197
41. **Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K.** Assay for lipit peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem*, 1979, 95: 351-358
42. **Oryan A, Moshiri A, Parizi AM.** Alcoholic Extract of Tarantula Cubensis Improves Sharp Ruptured Tendon Healing After Primary Repair in Rabbits. *Am J Orthop*, **2012**, 41(12): 554-560
43. **Oryan A, Moshiri A, Raayat AR.** Novel Application of Theranekron® Enhanced the Structural and Functional Performance of the Tenotomized Tendon in Rabbits. *Cells Tissues Organs*, **2012**, 196: 442-455.
44. **Özer A, Özfiliz N, Erdost H, Zık B.** *Veteriner Embriyoloji.* Nobel Yayınevi, 3. Baskı, Eylül **2007**
45. **Özyurtlu N, Aslan S.** Homeopati ve Veteriner Hekimliğinde Kullanımı. *Veteriner Hekimler Derneği Dergisi*. **2007**, 78(1): 39-41
46. **Poyraz, Ö.** *Sıcakkanlı hayvanlar.* editör: Poyraz, Ö, In: Laboratuvar hayvanları bilimi. Ankara: Kardelen of set, **2000**, s. 179-223
47. **Richardson-Boedler C.** The brown spider Loxosceles laeta: source of the remedy Tarentula cubensis. *Homeopathy*, **2002**, 91: 166-70
48. **Robert J.** Effectsof Cadmium upon Regenerated Testicular Vessels in the Rat. *University of Cincinnati College of Medicine, Cincinnati, Ohio 4526*, **1980**, 23: 171 -179
49. **Rouge M.** Sperm Morphology.
50. Erişim: <http://www.vivo.colostate.edu/hbooks/pathphys/reprod/semeneval/morph.html>. 2004. Erişim Tarihi: 28.04.2016.
51. **Russell LD.** *Normal development of the testis.*In: Mohr U, Dungworth DL, Capen CC, editors. Pathobiology in the Aging Rat, Volume 1, Washington, D.C: ILSI Press, **1992**, p. 395-405.
52. **Sardari K, Kakhki EG, Mohri M.** Evaluation of wound contraction and epithelialization after subcutaneous administration of Theranekron® in cows. *Comp Clin Pathol*, **2007**, 16:197-200

53. **Sardari K, Mohri M, Sabzevari S, Fathi B.** Effects of the Theranekron®"an alcoholic extract of the Tarantula cubensis" on hematology and serum biochemical properties in horses. *Iranian Journal of Veterinary Science and Technology*, **2011**, 3(2): 9-16
54. **Seed J, Chapin RE, Clegg ED, Dostal LE, Foote RH ve ark.** Methods for assessing sperm motility, morphology, and counts in the rat, rabbit, and dog: A consensus report.ILSI Risk Science Institute Expert Working Group on Sperm Evaluation.*Reproductive Toxicology*, **1996**, 10(3): 237-244
55. **Siu ER, Mruk DD, Porto CS, Cheng CY.** Cadmium-induced testicular injury. *Toxicol Appl Pharmacol*, **2009**, 238 (3):240-9
56. **Stampa S.** A field trial comparing the efficacy of sulfamonomethoxine, penicillin, and tarantula poison in the treatment of pododermatitis circumscripta of cattle. *J S Afr Vet Assoc*, **1986**, 57:91-3
57. **Sun J, Zhang X, Broderick M, Fein H.**Measurement of Nitric Oxide Production in Biological Systems
58. by Using Griess Reaction Assay.*Sensors* 2003, 3, 276-284
59. **Syers JK, Mackay AD, Brown MW, Currie CD.** Chemical and physical characteristics of phosphate rock materials of varying reactivity. *J Sci Food Agric*, **1986**,37:1057-64
60. **Taylor MD.** Accumulation of Cadmium derived from fertilizers in New Zealand soils. *Sci Total Environ*, **1997**, 208: 123-6
61. **Tekelioğlu M.** Özel Histoloji İnce Yapı ve Gelişme. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi ANTIP AŞ Yayınları, Ankara,**2002**, s. 231-252
62. **Thompson J, Bannigan J** Cadmium: Toxic effects on the reproductive system and the embryo. *Reproductive Toxicology*,**2008**, 25: 304-315
63. **Tuçcu V, Gedikbaşı A, Mutlu B, Güner E, Uhri Mve ark.**Increased testicular 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG) and inducible nitric oxide synthetas (iNOS) and nuclear factor κB (NF-κB) expressions in experimental rat varicocele. *Arch Ital Urol Androl*, **2010**, 82: 148-153
64. **Veiga SS, Feitosa L, dos Santos VLP,de Souza GA, Ribeiro AS ve ark.** Effect of brown spider venom on basement membrane structures. *Histochem J*, **2000**, 32: 397- 408
65. **Yang HS, Han DK, Kim JR, Sim JC.** Effects of alpha-tocopherol on cadmium-induced toxicity in rat testis and spermatogenesis.*J Korean Med Sci*, **2006**, 21(3): 445-51
66. **Yari A, Asadi MH, Bahadoran H, Dashtnavard H, Imani H ve ark.** Cadmium toxicity in spermatogenesis and protective effects of L-carnitine in adult male rats. *Biol Trace Elem Res*, **2010**, 137: 216-225
67. **Waalkes MP, Rehm, S, Riggs CW, Bare RM, Devor DE ve ark.** Cadmium carcinogenesis in maleWistar [Cr:(WI)BR] rats: Dose-response analysis of effects of zinc on tumor induction in the prostate, in the testes, and at the injection site. *Cancer Res*, **1988**, 48: 4656-4263
68. **Walker WF ve Homberger D,***Anatomy & Dissection of the Rat*. Third edition. W.H. Freeman and Company; USA.**1997**, s. 67-75
69. **Wong KL, Klaassen CD.** Neurotoxic effects of cadmium in young rats. *Toxicol Appl Pharmacol*, **1982**, 63: 330-7

## ÖZGEÇMİŞ

1989 yılında Hatay’da doğdu. İlköğretim ve lise eğitimlerini Hatay’da tamamlamasının ardından 2008 yılında MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ Fen Edebiyat Fakültesi’ni kazandı. 2012 yılında MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ Fen Edebiyat Fakültesi’nden mezun oldu. 2013 yılında Mustafa Kemal Üniversitesi Veteriner Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı’nda Yüksek Lisans eğitimine başladı.2014 yılında NİĞDE ÜNİVERSİTESİ Eğitim Bilimleri Fakültesi’nde Pedagojik Formasyon Eğitimi gördü.2014 yılında Pedagoji Eğitimi tamamladı.