



KUZEY KIBRIS TÜRK CUMHURİYETİ
YAKIN DOĞU ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**SIÇAN TESTİS DOKUSUNDA KADMIYUMUN OLUŞTURDUĞU
DEĞİŞİKLİKLERE CORCHORUS OLİTORİUS VE PROTOCATECHUİC
ASİTİN ETKİLERİ**

KATRİYE KOMİLİ
YÜKSEK LİSANS TEZİ
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
Prof. Dr. AYSEL KÜKNER

2020-LEFKOŞA



KUZEY KIBRIS TÜRK CUMHURİYETİ
YAKIN DOĞU ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**SIÇAN TESTİS DOKUSUNDA KADMIYUMUN OLUŞTURDUĞU
DEĞİŞİKLİKLERE CORCHORUS OLİTORİUS VE PROTOCATECHUİC
ASİTİN ETKİLERİ**

KATRİYE KOMİLİ
YÜKSEK LİSANS TEZİ
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
Prof. Dr. AYSEL KÜKNER

2020-LEFKOŞA

YAKIN DOĞU ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE

Bu çalışma jürimiz tarafından Histoloji ve Embriyoloji Programında Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Üye (Jüri Başkanı/Danışman): Prof. Dr. Aysel KÜKNER

Yakın Doğu Üniversitesi Tıp Fakültesi

Üye: Prof. Dr. Gamze MOCAN (Sınava Giremedi)

Yakın Doğu Üniversitesi Tıp Fakültesi

Üye: Prof. Dr. Candan ÖZOĞUL

Girne Üniversitesi Tıp Fakültesi

Üye (Yedek): Prof. Dr. Nurhayat GÜLMEZ

Yakın Doğu Üniversitesi Veteriner Fakültesi

Üye (Yedek): Prof. Dr. Engin ÇALGÜNER

Girne Üniversitesi Tıp Fakültesi

ONAY:

Bu tez, Yakın Doğu Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri üyeleritarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Hüsnü Can BAŞER
Sağlık Bilimleri Enstitü Müdürü

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu ve yapılırken gerekli olan tüm bilgilerin etik kurallarına uygun bir şekilde elde edilip uygulandığını beyan ederim. Bu kural ve davranışların olması gerektiği gibi hiç bir ekstra uygulama yapılmadan çalışmada belirtildiği gibi sonlandığını ve sonuçları tam olarak aktardığımı beyan ederim

Katriye KOMİLİ

YÖNERGEYE UYGUNLUK ve ONAY

“ Sıçan Testis Dokusunda Kadmiyumun Oluşturduğu Değişikliklere Corcorus Olitorius ve Protocatechuic Asitin Etkileri” isimli Yüksek Lisans Tezi Yakın Doğu Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi’ ne uygun olarak yazılmıştır.

Tezi Hazırlayan
Katriye KOMİLİ

Danışman
Prof. Dr. Aysel KÜKNER

Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı Başkanı
Prof. Dr. Aysel KÜKNER

TESŞEKKÜR

Çalışmam için beni yönlendirip mesleki gelişimim için kıymetli bilgilerini , emeğini ve zamanını esirgemeyen, yüksek lisans tezim için sonsuz emek ve sabır gösteren tez danışmanım ve kıymetli hocam Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Aysel KÜKNER’e ,

Her türlü desteği ile yanımda bana çalışmalarımda yol gösteren Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Öğretim Görevlisi Gizem SÖYLER ve Pelin TOROS’a,

“Deney Hayvanları” ile ilgili tüm bilgilerini ve labaratuvarını benimle paylaşan Yakın Doğu Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Deney Hayvanları Araştırma Merkezi Veteriner Hekimi Sayın Melis Temizel’e,

İstatistik alanında bana sonsuz sabrını ve bilgisini sunan Sayın Yrd. Doç. Dr. Özgür Tosun’a,

Corchorus Olitorius ekstraksiyonun hazırlanmasında yardımcı olan kıymetli zaman ve emeklerini esirgemeyen Sayın Prof. Dr İhsan ÇALIŞ’a ve Dr. Azmi HANOĞLUN’a,

Eğitim ve öğretim hayatım boyunca bana tam anlamıyla sabır ve özveri gösteren beni her zaman destekleyen canım annem Hatice KOMİLİ’ye , canım babam Durmuş KOMİLİ’ye ve kardeşim Mehmet KOMİLİ’ye teşekkürlerimi sunarım.

Bu tez YDÜ BAP Komisyonu tarafından (Proje No: SAG-2018-01-042) proje ile desteklenmiştir.

Katriye KOMİLİ

Sıçan Testis Dokusunda Kadmiyumun Oluşturduğu Değişikliklere Corchorus Olitorius ve Protocatechuic Asitin Etkileri

Katriye KOMİLİ

Danışman: Aysel KÜKNER

Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı

ÖZET

Amaç: sıçanlara uygulanan kadmiyum klorürün testis dokusunda oluşturduğu hasara karşı Lefkoşa/Kıbrıs bölgesine ait Corchorus Olitorius'un (CO) olası tedavi edici etkilerinin ışık mikroskopik olarak incelenmesidir. Corchorus olitoriusun etkileri antioksidan etkili PCA ile karşılaştırılmıştır. Elde edilecek olumlu sonuçlar ağır metallerin toksik etkilerine karşı yeni bir yaklaşımı getirecektir.

Gereç ve Yöntem: Çalışmada 170-250 gr ağırlığındaki toplam 36 tane Wistar albino erkek sıçan kullanılmıştır. Kontrol, Kadmiyum (Cd) verilen grup, Cd+PCA verilen grup, Cd+ CO verilen grup, PCA verilen ve CO verilen grup olmak üzere toplam 6 grup oluşturuldu. Cd, haftada bir kez 3,5mg/kg intraperitoneal olarak, PCA her gün 20mg/kg oral, CO hergün 250mg/kg oral olarak uygulandı. Deney sonunda alınan testis dokuları rutin ışık mikroskopik takip yöntemlerinden geçirildi ve parafin bloklar hazırlandı. Kesitler HE, Masson triple ve PAS ile boyandı. Apoptozis için TUNEL boyaması yapıldı. Deney öncesi ve sonrası deneklerin vücut ağırlıkları, ayrıca testis ağırlıkları tartıldı. Her deneğin testis dokusunda TUNEL (+) boyanmış seminifer tübül hücreleri sayıldı. Elde edilen değerler istatistiksel olarak değerlendirildi.

Bulgular: Kadmiyumlu grup ile diğer gruplar karşılaştırıldığında testis ağırlıklarının istatistiksel olarak anlamlı ($p<0.05$) azaldığı saptanmıştır. Cd+PCA ve Cd+CO gruplarda testis ağırlıklarının Cd grubuna göre artmış olduğu ancak kontrol grubu değerlerine ulaşmadığı görüldü. Ayrıca histolojik olarak yapılan ışık mikroskopik değerlendirmelerde; kadmiyum uygulanan testis dokusunda seminifer tübüllerin bozulduğu, spermatogenetik hücrelerin ve Sertoli hücrelerinin ayırt edilemediği, intertisyel

dokuda Leydig hücrelerinin tanımlanamadığı, çok sayıda inflamatuvar hücrenin olduğu, bağdoku artışı, ödem geliştiği tespit edildi. Cd verilen grupta seminifer tübül lümenlerinde sperm toplulukları çok az veya hiç olmadığı gözlemlendi. Tedavi olarak PCA ve Corchorus Olitorius verilen gruplarda seminifer tübül lümenlerinin bir kısmında sperm toplulukları görüldü, interstisyel dokudaki inflamasyonun azaldığı ancak tamamen ortadan kalkmadığı tespit edildi. TUNEL (+) boyanmış seminifer tübül hücreleri Cd grupta kontrole göre artış gösterirken, tedavi gruplarında azalmıştı. Olumlu yöndeki etkiler PCA grubunda CO grubuna göre daha belirgindi.

Sonuç: Kadmiyumun testis dokusundaki ortaya çıkardığı yapısal bozukluklara karşı PCA ve CO'nun azaltıcı etkileri tespit edilmiştir.

Anahtar Sözcükler: Kadmiyum, Testis, PCA, Corchorus Olitorius, Apoptozis

Effects of Cadmium in rat testicular tissues changes that uses Corchorus Olitorius and Protocatechuic Acid treatment

Katriye KOMİLİ

Danışman: Aysel KÜKNER

Histology and Embryology Department

SUMMARY

Aim: Cadmium chloride testicular tissue and epididymis of rats the aim of this study applied in Gland (caudal region) revealed against Nicosia/Cyprus region from light microscopic and biochemical study of the therapeutic effects of Corchorus Olitorius (CO) possible to make. The PCA and Corchorus Olitorius beneficial effects will search. The positive results will bring a new approach to the toxic effects of heavy metals. Toxic changes produced in the seminiferous tubules of cadmium that will be evaluated. spermatogenic cells in the seminiferous bus that cadmium proliferation, and apoptosis will be evaluated.

Material and methods: In experiment, Thirty six healthy male Wistar albino rats which is weighing 170–250 g were take in this study. The animals divided randomly 6 groups. Which are Kontrolrol group , Cadmium group, CO group, PCA group, Cadmium+ PCA group and Cadmium+CO group. Cd, is given 3,5mg/kg intraperitoneal once a week , PCA is given 20mg/kg orally daily by gavage and CO is given 250mg/kg orally daily by gavage. After the experiment, testes were getting ready for light microscope. Testes tissues stained by HE, Masson triple and PAS in additional, TUNEL is used for observed apoptosis in testes tissues. Before and after weight of the rats evaluated and testes's weight evaluated after the experiment. If the testes stained by TUNEL (+), the number of cells account and record. The results valuted by istatistical analyzes.

Findings: When the compare group of Cadmium and the others, we collect the testicular weight decrease between groups. Cd+PCA and Cd+CO group's testicular weight increase when compare the Cd given group but their results is not near to control group's testicular weight. After the microscopic and histological analysis , the seminiferous tubules

structure change, spermatogenetic and Sertoli cells did not seen in the Cadmium given group. In the cadmium groups the Leyding cells are not diagnosed in interstial tissue, many inflamatuar cells seen, edama observed in the testes, connective tissues are increase between the cells. Some seminiferous tubes had little amount of spermatogenetic cells but some seminiferous tubules had not any of the spermatogenetic cells. In PCA and Corchorus Olitorius given group's seminiferous tubules had sperm and inflamatur cells were decrease in the tissues. Cd given groups have more apaptotic cells in seminiferous tubules which stained by TUNEL and labeled them TUNEL (+). PCA and CO given groups has low amount of apaptotic cells which stained by TUNEL.

Result: After study, the groups of Cadmium has diferent testicular structure and sperm production, sperm cells , in the presence of Sertoli Cells has a negative impact on the structure of observed. PCA and Chorchoru Olitorius are used to reduce the disadvantages of and against the adverse effects of cadmium has been observed.

Key words: Cadmium, Testis, Corchous Olorius, Protocatechuic Acid, Apoptosis

KISALTMALAR ve SİMGELER

ABP Androjen Bağlayıcı Protein

ACTH Adrenokortikotropik Hormon

ALA α -linoic asit

AMH Anti-Mülerien Hormon

ATP Adenozin trifosfat

CAT Katalaz

Cd Kadmiyım

CdS Kadmiyum Sülfid

CO Corchorus Olitorius

Kontrol Kontrol

FSH Folikül Uyarıcı Hormon

GnRH Gonodotropin Salgılayıcı Hormon

GPx Glutasyon Peroksidaz

GST Glutasyon Peroksidaz

H&E Hematoksilen Eosin

LH Lüteinizen Hormon

MSH Melanosit Uyarıcı Hormon

NADPH Nikotinamid Adenin Dinükleotit Fosfat

PAS Periyodik Asit Schiff

PCA Protocatechuic Asit

ROS Reaktif Oksijen Türleri

SOD Süperoksit dismutaz

TDF Testis Belirleyici Hormon

TUNEL Terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP transferase-mediated nick end-labeling

WHO Dünya Sağlık Örgütü

α Alfa

β Beta

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
BEYAN.....	ii
YÖNERGEYE UYGUNLUK.....	iii
ÖZET.....	vii
SUMMARY.....	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xi
ŞEKİLLER.....	xiv
TABLolar.....	xvii
1.GİRİŞ ve AMAÇ.....	1
2.GENEL BİLGİLER.....	2
2.1 Erkek Üreme Sistemi Histolojisi.....	2
2.1.1 Testis.....	3
2.1.2 Seminifer Tübülleri.....	4
2.1.3 Spermatogenez.....	6
2.1.4 Spermiyogenez.....	8
2.1.5 Leydig Hücreleri ve İnterstiye Doku	10
2.1.6 Sertoli Hücreleri.....	11
2.1.7 Rete Testis.....	12
2.1.8 Duktuli Efferentes . Epididimis ve Duktus Deferens.....	12
2.2 Erkek Üreme sistemi Embriyolojisi.....	13
2.3 Erkek Üreme Sistemi Fizyolojisi.....	16
2.4 Erkek infertilesi.....	17
2.5 Kadmiyum.....	19
2.5.1 Kadmiyum ve Erkek Üreme Sistemi.....	21

2.5.2 Kadmiyum Kadmiyumun Erkek Üreme Sisteminde Oluşturduğu Oksidatif Stresse Karşı Antioksidantların Etkisi	24
2.6 Corchorus Olitorius.....	24
2.7 Protocatechuic Asit (PCA).....	26
3. GEREÇ ve YÖNTEM	29
3.1 Malzemelerin Hazırlanışı.....	30
4. BULGULAR.....	36
4.1 İstatiksel Analiz.....	36
4.2 Histolojik ve Mikroskopik Değerlendirme.....	45
5. TARTIŞMA.....	59
6. SONUÇLAR.....	64
7. KAYNAKÇA.....	65
8. Ekler.....	76

ŞEKİLLER

Şekil 2.1. Erkek üreme sistemi.....	3
Şekil 2.2 Testisin yapısı.....	4
Şekil 2.3 Seminifer tübüllerinin histolojik yapısı.....	5
Şekil 2.4 Spermatogenesis.....	7
Şekil 2.5 Spermiyogeneziste Golgi, Kep, Akrozom ve Olgunlaşma Evreleri.....	9
Şekil 2.6 Spermin yapısı.....	10
Şekil 2.7. Erkek üreme sisteminin haftalara göre gelişimi.....	15
Şekil 2.8 Corchorus Olitorius bitkisinin yaprakları ve çiçeği.....	25
Şekil 2.9 PCA'nı kimyasal yapısı.....	27
Şekil 4.1 Grupların testis ağırlıklarının ortalama değerleri.....	43
Şekil 4.2 Grupların Deney öncesindeki vücut ağırlıklarının ortalama değeri.....	44
Şekil 4.3 Grupların Deney sonrasında vücut ağırlıklarının ortalama değerleri.....	44
Şekil 4.4 Gruplara ait TUNEL sonuçları.....	45
Şekil 4.3.1. Kontrol testis dokusu. Seminifer tübüllerin (St) yapısı normal görülmeştir. HE x10.	46
Şekil 4.3.2 Kontrol testis dokusu. Spermatogoniumlar (S1) primer spermatositler (S2), erken spermatitler (S3), spermiyumlar (S4), Sertoli hücresi (Sh), oklar Leydig hücresi (ok). HE x40.	46
Şekil 4.3.3 Kontrol grubunda İntertisyel dokuda çok sayıda Leydig hücreleri (oklar) görülmeştir. HE x40.....	47
Şekil 4.3.4 Sadece PCA verilen grubun testis dokusu kontrol grubuna benzemektedir. HE x10.	47

Şekil 4.3.5 Sadece CO verilen grupta testis dokusu kontrol grubuna benzemektedir. HEx10.	48
Şekil 4.3.6 Kontrol testis dokusunda seminifer tübül bazal membranları görülmektedir. PAS x10.	48
Şekil 4.3.7 Sadece PCA verilen grupta seminifer tübüllerin bazal membranları görülmemektedir. PAS x40.	49
Şekil 4.3.8 Sadece CO verilen grupta seminifer tübül bazal membran yapısı görülmemektedir. PAS x40.	49
Şekil 4.3.9 Kontrol grubunda seminifer tübüller arasındaki bağ dokusu artışı olmadığı görülmemektedir. Masson Trikrom boyaması x10.	50
Şekil 4.3.10 Cd uygulanan grupta testis seminifer tübüllerinde ileri derecede dejenerasyon, intertisyel dokuda inflamatuvar hücre ve bağ doku artışı, ödem (*), görülmemektedir. HEx10.	50
Şekil 4.3.11 Cadmiyum toksisitesine bağlı olarak epididimis bezinde sperm yapıları görülmemektedir.	51
Şekil 4.3.12 Cd verilen grupta spermatogenetik hücrelerin sayıca çok azaldığı, lümende hücre artıklarının (*) olduğu görülmektedir. HE x40.	51
Şekil 4.3.13 Cd verilen grupta intertisyel dokuda özellikle nötrofil granüositler olmak üzere artmış inflamatuvar hücreler görülmekte. HEx40.....	52
Şekil 4.3.14 Cd verilen grupta intertisyel alanda artmış bağ doku görülmektedir. Masson Trikrom x 40.	52
Şekil 4.3.15 Cd verilen grupta seminifer tübüllerin bozulmasına bağlı bazal membran yapılarının da bozulduğu, girintili çıkıntılı olduğu görülmektedir. PAS x10.	53
Şekil 4.3.16 Cd + PCA verilen grupta intertisyel alanda ödem ve inflamatuvar hücreler, Cd verilen gruba göre azalmış olarak görülmektedir. Masson Trikrom x 40.	53
Şekil 4.3.17 Cd + PCA verilen gruptaki bazı seminifer tübüllerde spermiyumlar belirgin olarak seçilmektedir. HE x40.	54

Şekil 4.3.18 Cd + CO verilen grupta, PCA verilen gruba benzer olarak inflamatuvar hücrelerin azaldığı, seminifer tübüllerde spermiyumların belirgin olduğu görülmektedir. HE x40.	54
Şekil 4.3.19 Cd + PCA verilen grupta seminifer tübül bazal membranları görülmektedir. PAS x40.	55
Şekil 4.3.20 Cd + CO verilen grupta seminifer tübül bazal membranları görülmektedir. PAS x40.	55
Şekil 4.3.21 Kontrol grubu seminifer tübül hücrelerinde TUNEL (+) boyanan hücre görülmemektedir. TUNEL boyama x40.....	56
Şekil 4.3.22 Cd verilen grupta seminifer tübüllerde TUNEL (+) boyanmış spermatogenetik hücreler görülmektedir. TUNEL boyama x40.	56
Şekil 4.3.23 Cd verilen grupta seminifer tübül içindeki TUNEL (+) apoptotik hücreler görülmektedir. TUNEL boyaması x40.	57
Şekil 4.3.24 Cd + PCA verilen grupta seminifer tübüllerde azalmış TUNEL (+) hücreler görülmektedir. TUNEL immünohistokimyasal boyama x40.	57
Şekil 4.3.25 Cd + CO verilen grupta, PCA verilen gruba göre TUNEL (+) boyanan hücrelerin daha fazla olduğu görülmektedir. TUNEL boyama x40.	58

TABLÖLAR

Tablo 2.1 Corchorus Olitorius bitkisinin taksonomisi.....	25
Tablo 2.2 Bazı yiyeceklerde bulunan PCA değerleri.....	27
Tablo 3.1 Doku tespiti aşaması.....	32
Tablo 4.1 Deneklerin deney öncesi ve sonrası ağırlıklarının, sağ testis ağırlıklarının ve TUNEL sonuçlarının mean , standart deviasyon ve p sonuçları.....	36
Tablo 4.2. Deneklerin deney öncesi ve sonrası ağırlıklarının, sağ testis ağırlıklarının ve TUNEL sonuçlarının median, minmum ve maximum sonuçları.....	37
Tablo 4.3 Gruplara ait deney öncesi ve sonrası ağırlıkları ile testis ağırlıklarının p değerlerinin kendi aralarında karşılaştırılması.....	38

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Kadmiyum, Dünya Sağlık Örgütü'nün yayınlamış olduğu insan sağlığına zarar veren ağır metaller arasında yer almaktadır. Geçmiş yıllara oranla kadmiyumun hayatımızda daha fazla yer aldığı görülmektedir. Günlük yaşantımızda kullanılan piller, izolasyon materyalleri, elektrotlu akümülatörler, kurşunlu aküler, nikel-kadmiyum piller ve sigara kadmiyum içermektedir. Kadmiyuma bağlı dejenerasyonda oksidatif stres açığa çıkmakta ve ortaya çıkan serbest oksijen radikalleri hücre ölümüne neden olmaktadır. Oksidatif hasara karşı çeşitli koruyucu maddeler kullanılmaktadır (Tucker ve ark.,2011, F; Predes ve ark.2010). Kadmiyum kanserojen etkisinin olduğu, erkek üreme sisteminde, karaciğer ve böbreklerde hücre ölümlerine neden olduğu bilinmektedir (Predes ve ark.2010). Testis dokusu kadmiyumun toksik etkisine çok duyarlıdır. Kadmiyum vucut ve testis ağırlıklarını etkilemekte, seminifer tübüllerde yapısal bozukluklara yol açmakta, kan-testis bariyerini bozmakta, germ hücrelerinin ölümüne neden olmakta, Leydig hücrelerinden testesteron üretimini inhibe etmekte ve ödem ortaya çıkmaktadır. Sperm yapımı, sperm sayısı ve sperm morfolojisi olumsuz etkilemektedir (Fabricia ve ark.,2010; Dewanjee ve ark.,2013). Kadmiyum, özellikle antioksidan sistem savunmasını olumsuz yönde etkilemekte ve böylece etkilemiş olduğu organda geri dönüşümsüz hasara yol açmaktadır. Antioksidan etkiye sahip olan Protocatechuicasit (PCA) vücutta toksik maddelere karşı koruyucu etkiye sahiptir. Özellikle yapılan çalışmalarda antioksidan etkisinin alfa tokopherollerle karşılaştırıldığında 10 kat daha güçlü olduğu görülmüştür (Tanaka ve ark.,1993). Kadmiyuma bağlı artan apoptozisi azaltmakta ve anti inflamatuvar etkisi bulunmaktadır. Kadmiyuma bağlı testis dokusunda ortaya çıkan dejeneratif değişikliklerin PCA ile tedavi edildiği, oksidatif stresi azalttığı bildirilmiştir. Ayrıca antibakteriyel etkisine ek olarak kötü kolestrolü düşürdüğü görülmüştür (Olorunfemi ve ark.,2018).

Corcorus Olitorius, Akdeniz Ülkelerinde, Bangladeş ve Hindistanda oldukça yaygın olarak kullanılmaktadır. Kıbrıs'ta Molahiya olarak bilinen bu bitki yemek olarak tüketilmektedir. Bu bitkinin özellikle yaprakları ve sapları ayrı amaçlara yönelik olarak kullanılmaktadır (Dewanjee ve ark.,2013). Protein, karbonhidrat, yağ, kalsiyum,

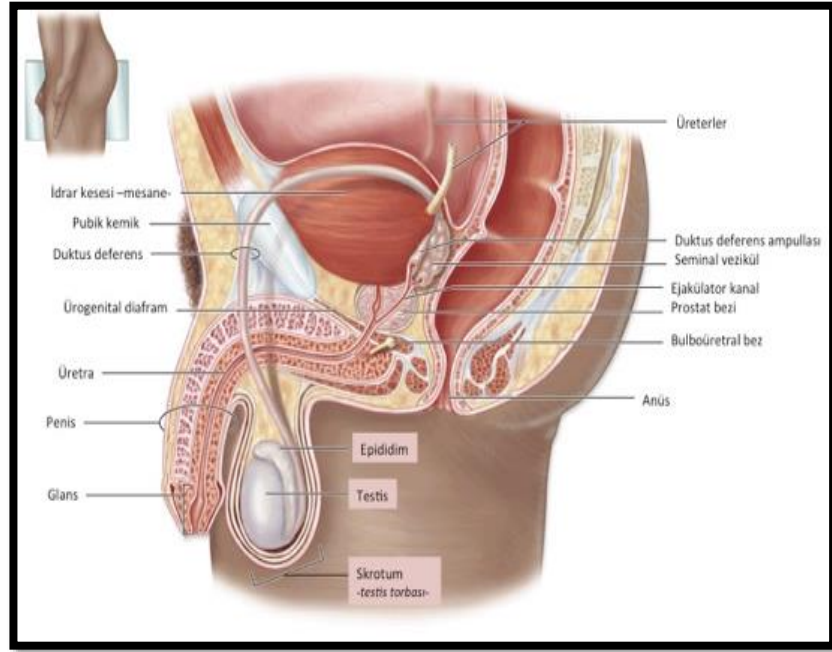
potasyum, demir, sodyum, fosfor, beta-keroten, A, C ve E vitaminleri bakımından oldukça zengindir (Dewanjee ve ark.,2013). Yapılan çalışmalar sonucunda antiinflamatuvar, antitümör, antiseptik özellik gösterdiği saptanmıştır. Baş ağrısı, karaciğer hastalıkları, öksürük ve dizanteriyi tedavi ettiği bildirilmiştir (Dewanjee ve ark.,2013; Islam ve ark.,2013) . Kültür ortamında kanser hücre serilerinde corcorus olitorius'un antitümör etkisinin olduğu tespit edilmiştir (Soykut ve ark.,2018). Corcorus Olitorius'un kadmiyumun karaciğer dokusunda oluşturduğu toksik etkiye karşı tedavi edici olduğu, özellikle oksidatif stresi azalttığı saptanmıştır (Mehranjani ve ark.,2009).

Bu çalışmanın amacı sıçanlara uygulanan kadmiyum klorürün testis dokusunda oluşturduğu hasara karşı Lefkoşa/Kıbrıs bölgesine ait Corcorus Olitorius'un olası tedavi edici etkilerinin ışık mikroskopik olarak incelenmesidir. Corcorus olitoriusun etkileri antioksidan etkili PCA ile karşılaştırılacaktır. Elde edilecek olumlu sonuçlar ağır metallerin toksik etkilerine karşı yeni bir yaklaşımı getirecektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Erkek Üreme Sistemi Histolojisi

Erkek üreme organı iç ve dış organlar olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. İç genital organlar; Testis, Epididymis, Ductus Deferens, Vesicula Seminalis, Ductus Ejaculatoris, Bulboüretral Bez ve Prostat Bezlerinden oluşur. Erkek üreme sisteminde dış genital organlar ise Penis ve Scrotumdur Şekil 2.1 (Mescher, 2010).

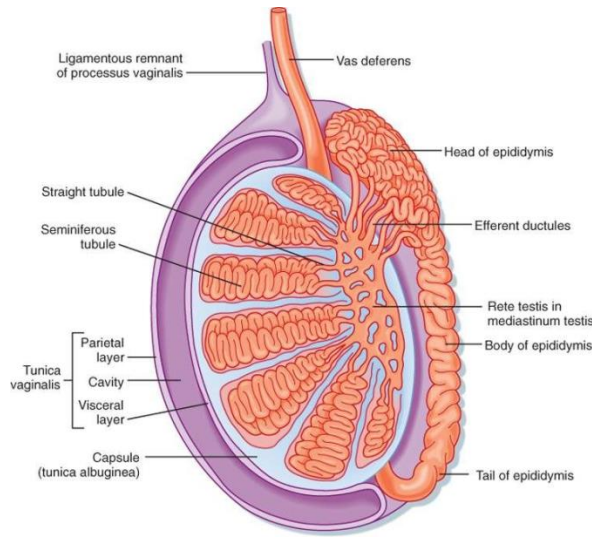


Sekil 2.1 Erkek üreme sistemi (Mescher, 2010)

2.1.1 Testisler

Testisler endokrin ve ekzokrin özellikleri olan bir çift organ olarak bilinmektedir. Testisler skrotum içinde yerleşik, vücudun dışında bulunurlar (Ross ve Pawlina , 2011) . Fetusün gelişimi sırasında testislerden üretilen androjenler erkek üreme sistemini sağlıklı bir şekilde gelişimini sağlamaktadır. Puberte döneminde salgılanan erkeklik hormonunu olan testosteronun testislerden salınmasıyla erkeklerde ikincil seks karakterlerinin oluşumu ve gelişimi başlamaktadır. Skrotum içerisinde yer alan testisler dışarıdan 3 tabaka sayesinde korunmaktadırlar. Bu tabakalar, içte tunika vasküloza , ortada tunika albugenia ve en dışta tunika vajinalisdir. Mediastinum bölgesinde kan damarları, lenf damarları ve sperm boşaltım kanalları yer alır. Testislerin endokrin salgısı testosteron hormonudur. Erişkin bireylerde sperm üretimin devamlılığının olması, ikincil seks karakterlerinin korunması ve yardımcı bezlerin görevlerini yerine getirmesi testosteron hormonuna bağlıdır. Sağlıklı bir erkek bireyde günde ortalama olarak $150-160 \times 10^6$ sperm üretimi gerçekleşmektedir. Gerekli olgunluğa ulaşmış bir erkek testisi ortalama

olarak 4 cm uzunluğunda, 2-3 cm genişliğinde ve 3 cm kalınlığındadır. Tunika albuginea, testisleri 250-350 adet lobüle ayırır, her bir lobülde 1-4 arası kör uçla başlayan seminifer tübüller yer alır (Şekil 2.2). Seminifer tübüllerden tubuli rektler çıkmaktadır. Seminifer tübülleri gevşek bağ dokusu, (intertisyel doku) sarar, kan damarları ve Leydig hücreleri ve az sayıda diğer bağ dokusu hücreleri bulunur. Spermatogenezisin oluşması için testislerdeki sıcaklık vücut sıcaklığına oranla daha düşük olması gerekmektedir bu nedenle testisler skrotumda yer almaktadır (Ross ve Pawlina , 2011).

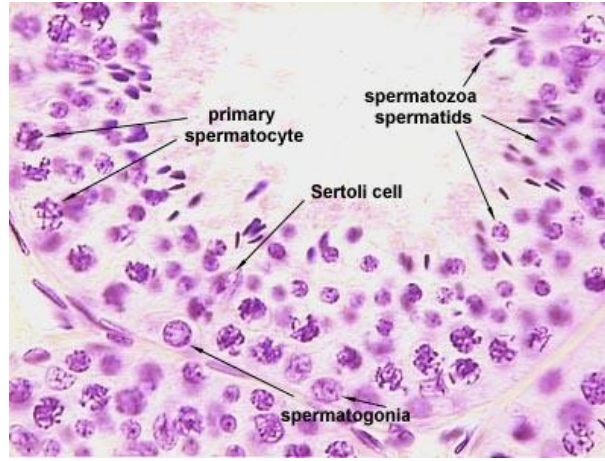


Şekil 2.2. Testisin Yapısı (Ross ve Pawlina , 2011)

2.1.2 Seminifer Tübüller

Seminifer tübüller, 30-70 cm uzunluğunda 150-250 µm kalınlığında oldukça kıvrımlı tübüller olup, günde yaklaşık 2×10^8 sperm üretilmektedir. Seminifer tübüller, Sertoli hücreleri ve gelişiminfarklı değerleri, lı evrelerindeki spermatogenetik hücrelerden oluşur. Seminifer epitelinı kuşatan ince dokuya peritübüler doku denilmektedir ve bu bölgede myoid hücreler yer almaktadır. Bu hücreler düz kas hücrelerine benzer, aktin filamentlerinden zengindir. Miyoid hücreler kasılarak olgun spermilerin kanallara iletilmesine yardımcı olmaktadır. Seminifer tübülleri içerisinde spermatogenetik

hücreler farklı değerleri, lı gelişim aşamasında olup birbirleri üzerine sıralanmış hücrelerdir. Bu hücrelerden Spermatogonyumlar bazal membrana en yakın diploid hücrelerdir. Seminifer tübül lümenine en yakın olarak bulunan daha olgun hücrelere spermatid ve lümende bulunan hücrelere ise spermiyum denmektedir. Spermatogonyumlar ortalama 12 µm çapındadırlar. Cinsel olgunluğa erişmiş olan erkek bireylerde spermatogonyum hücreleri mitoz bölünmeyle hızlıca çoğalıp yeni hücreleri oluşturur (Mescher, 2010) (Şekil 2.3).



Sekil 2.3. Seminifer tübüllerin Histolojik yapısı (Ross ve Pawlina , 2011)

Spermatogonyumlar diğer spermatogenetik hücrelerin ana hücrelerisidir. Mitoz bölünmeyle yeni oluşan hücreler nükleus özelliklerine göre 3 tipte belirlenir. Tip A koyu renkli spermatogonyumlar; Tip A açık renkli spermatogonyumlar ve Tip B spermatogonyumlar. Tip A koyu renkli spermatogonyumlar, yoğun bazofilik nükleusu bulunan ince granüler kromatinli hücrelerdir. Tip A koyu renkli spermatogonyumlar kök hücre özelliğine sahip hücre olarak tanımlanabilir. Tip A açık renkli spermatogonyumlar gelişip yeterli olgunlukta spermiyumları oluşturur. Tip A açık renkli spermatogonyumlar ince granüler yapıda açık boyanan hücrelerdir. Tip B spermatogonyumlar yuvarlak nükleuslu hücrelerdir. Bu hücreler primer spermatositleri oluşturmaktadır. Primer spermatositler hemen genetik materyalleri olan DNA'larını 2 katına çıkararak kendilerini mayoz bölünmeye hazırlarlar (Ross ve Pawlina , 2011).

2.1.3 Spermatogenez

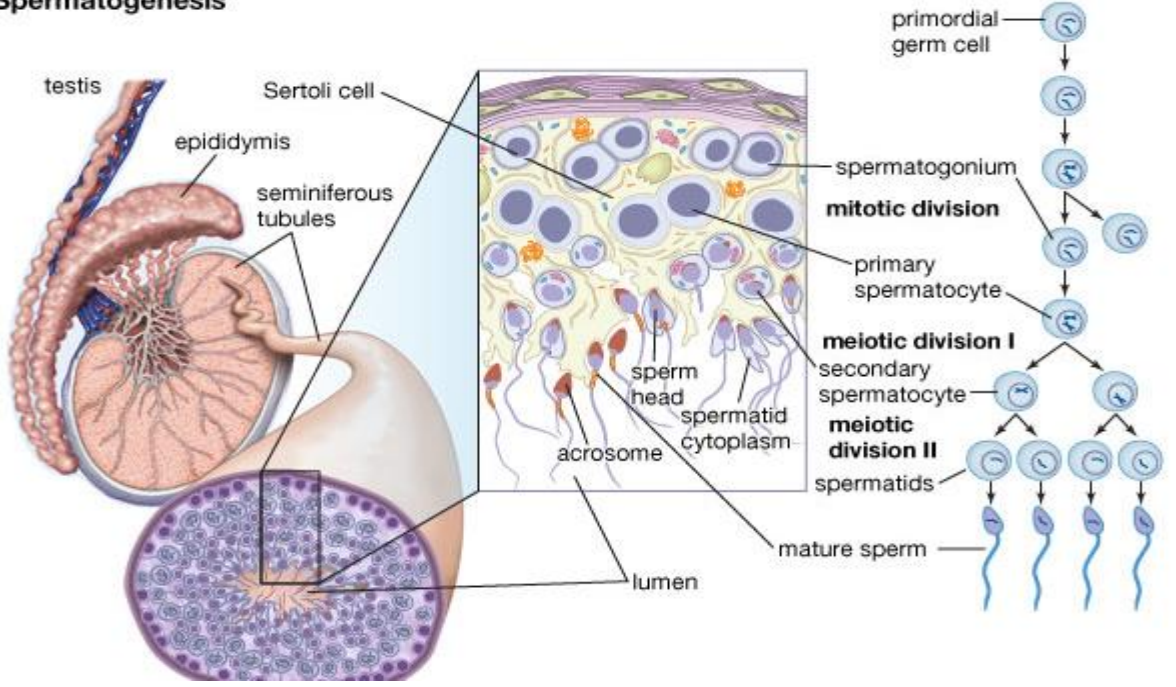
Spermatogenez p b rte ile başlayıp azalarak devam etse de yaşlılıkta da gözlenen bir süreçtir. Spermatogenez hormonların etkisi ile spermatogonyumların spermilere dönüşme süreci olarak bilinen karmaşık bir süreçtir. Bu süreç aynı zamanda apoptoziside kapsamaktadır. Spermatogenez    evrede incelenir. Bu evreler; çoğalma evresi olarak adlandırılan spermatositogenez, büyüme evresi olarak adlandırılan mayoz evresi ve olgunlaşma evresi olarak adlandırılan spermiyogenezdir. Spermatositogenez spermatogonyumların primer spermatositlere dönüşme evresidir ; mayoz evresi primer spermatositlerden başlayarak spermatidlere dönüşme evresidir; spermiyogenez evresi ise spermatidlerin spermiyumlara dönüşme evresidir (Ross ve Pawlina , 2011).

Spermatogenez p b rte döneminde, hipotalamustan salgılanan GnRH (Gonodotropin salgılayıcı hormonun) uyarısıyla hipofizin  n lobundan FSH ve LH salgılanması ile başlar. Bu olayda testosteron önemli rol oynamaktadır (O'Shaughnessy 2014). Bu hormonların etkisi altında spermatogonyumların mitoz bölünme geçirmekte ve bu sayede primer spermatositleri oluşmaya başlamaktadır. Primer spermatositler gözlemlenen en büyük hücrelerdir. Oluşan her bir primer spermatosit dört olgun spermisi oluşturmaktadır. Primer spermatositler diploid olup $46 + XY$ kromozoma sahiptir. Primer spermatositlerin birincil mayoz bölünmeye girmesi ve sekonder spermatositler oluşması ortalama 3 hafta sürmektedir. Oluşan sekonder spermatositler haploid olup $23 + X$ veya $23 + Y$ kromozoma sahiptirler. Ayrıca primer spermatositlere oranla daha k  k hücrelerdir ve sekonder spermatositlere alınan doku kesit örneklerinde rastlamak pek mümkün değildir. Çünkü sekonder spermatositler fazla zaman kaybı olmadan ikincil mayoz bölünmeye girmektedir. İkincil mayoz bölünme sonucunda ise spermatidler oluşmaktadır. Oluşan spermatidler haploid kromozomlu (23 kromozom) olup

$7 - 8 \mu m$ çapa sahiptirler. Spermatidlerin nukleusları yoğun kromatinlere sahip olup seminifer tübüllerin lümenine yakın yerde gözlenmektedirler (Hess, 1990) (şekil 2.3). Spermatidler değişim sürecine girdiklerinde sertoli hücrelerin membranlarına ba lı kalmaktadırlar. İnsanlarda spermatogenez ve spermin oluşması evresi yaklaşık $64 - 70$

gün sürmektedir; ratlarda bu süre 48 – 53 günü kapsamaktadır. Ratlarda sperm üretimi doğum sonrasında ilk olarak 45. günde görülmekle birlikte en fazla üretiminin 75. Günde gözlenmektedir (Ahmet ve ark.,2016, Ross ve Pawlina , 2011). (Şekil 2.4).

Spermatogenesis



Şekil 2.4. Spermatogenesis (Grace Young, 2016)

2.1.4 Spermiyogenez

Spermiyogenez spermatidlerin yeni özellikler kazanması ve spermatidlerin olgun spermatozoonlar şeklinde Sertoli hücrelerinin membranından ayrılıp seminifer tübüllerin lümenine bırakılmasını içeren mayoz ve mitoz bölümlerin gerçekleşmediği dört aşamalı

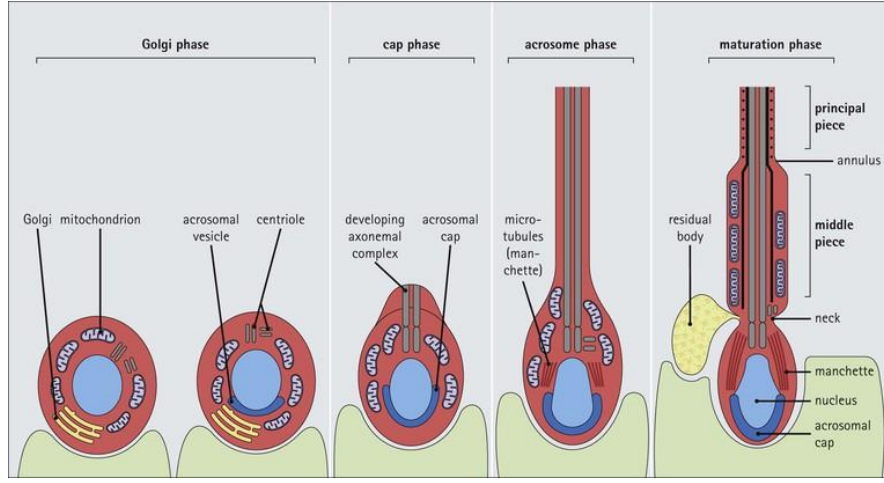
bir süreçtir. Bu aşamalar; Golgi, Kep, Akrozom ve Olgunlaşma Aşamalarıdır (Şekil 2.4). Spermiyogeneziste akrozomlar oluşmakta, çekirdek yoğunlaşmakta, flagellum oluşmakta ve sitoplazmanın çoğu bu aşamada kaybedilmektedir (Ross ve Pawlina , 2011) .

Golgi aşaması olarak adlandırılan bu evrede, spermatidlerin nukleusları karakteristik olarak yoğun kromatinlidir, nukleusa yakın bölgede iyi gelişmiş golgi kompleksi, mitokondriyonlar, bir çift sentriyol, endoplazmik retikulum ve serbest ribozomlar yer alır. Prokromozomal granüller Golgi kompleksinde birikmeye ve oluşan salgı vezikülleri birbiriyle birleşmeye başlayıp akrozomal başlığı (kep) oluşturur . Oluşan akrozomal başlık çekirdeğin ön kutbuna yerleşir. Sentriyoller ise ark.a kutba doğru göç ederek spermin kuyruğunun aksonemini oluşturur (Ross ve Pawlina , 2011).

Kep aşamasında ise akrozom başlık çekirdeğin çoğunu kaplayacak şekilde yayılır. Akrozom başlık hiyaluronidaz , asit fosfotaz B-N asetilglukoz-amidaz, aril fosfotaz ve tripsin benzeri olan akrozin gibi hidrolitik enzimler içermektedir . Bu hidrolitik enzimler sperm ile oosit karşılaştığında salgılanmaktadır. Salgılanan hiyaluronidaz enzimi oosit çevresindeki korona hücrelerinin arasını açmakta ve temizlemektedir. Bu olaya akrozomal reaksiyonu denir ve döllenmenin başlanması için gereklidir (Mescher, 2010).

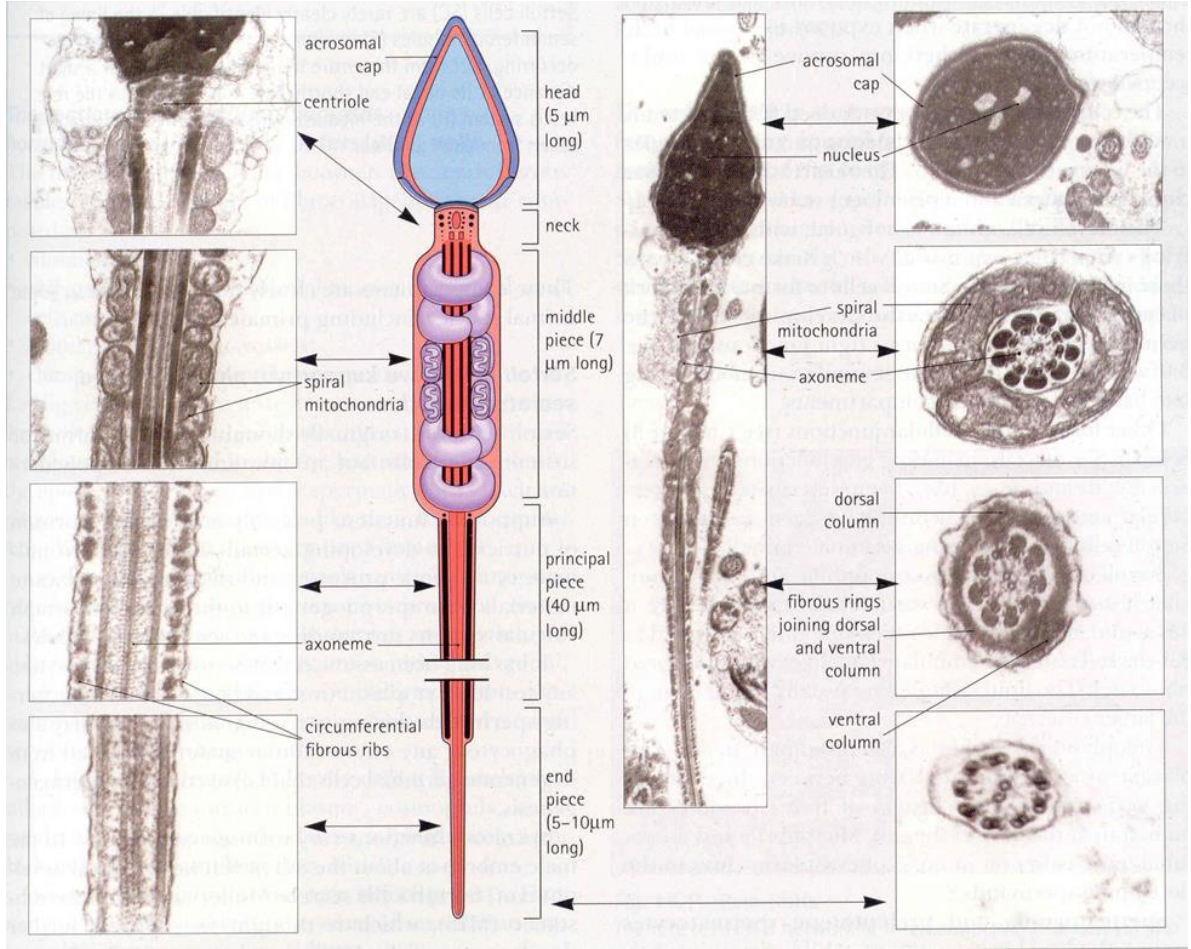
Akrozom aşamasında ise gelişen spermler Sertoli hücresinin apikal sitoplazmasında gömülü olarak bulunmakta ve spermin flagellumunun gelişmesi devam etmektedir (Ross ve Pawlina, 2011). Bu evrede uzamış olan çekirdekler yassılaşır ve kromatin yoğunlaşır. Proksimal bölgede ise iyonların etkisi ile spermin orta bölümü olarak adlandırılan, mitokondrilerden zengin ve ATP üretimini gerçekleştiren alan oluşur. Oluşan bu bölümde mitokondriden dolayı ATP üretimi başlar ve enerji üretim hızlanır. Üretilen bu ATP/ enerji sayesinde spermin hareket etmesi sağlanır (Mescher, 2010; Ross ve Pawlina , 2011) .

Olgunlaşma aşaması ise sitoplazma yoğunluğunda ve miktarında azalmalar gözlenir. Fazla olan ve gereksinim duyulmayan sitoplazma Sertoli hücreleri tarafından fagosite edilmektedirler. Spermiyogenesizine tamamlayan spermler Sertoli hücrelerinden ayrılıp lümene geçer (Ross ve Pawlina , 2011). Şekil 2.5



Şekil 2.5. Spermiyogeneziste Golgi , Kep, Akrozom ve Olgunlaşma Evreleri (Hitoshi ve ark.,2017)

Sperm, oosite oranla daha küçük olup aynı zamanda vücutta bulunan birçok hücreden de küçüktür. Spermier yapısal olarak 4 kısma ayrılırlar. Bunlar ; baş kısım ,orta kısım ,ana kuyruk ve son kuyruktur. Sperm başı yapısal olarak haploid çekirdeğe ve az miktarda sitoplazmaya sahiptir. Ayrıca spermin başında çekirdeğin büyük bir bölümünü kapsayan akrozom başlık yer alır. Orta kısım ise mitokondri bakımından zengin ve spermin ihtiyaç duyduğu enerjiyi sağlayan bölge olarak bilinmektedir. Spermin hareket etmesi için flagellumun ihtiyaç duyduğu enerji de buradan sağlanmaktadır. Kuyruk kısmı ise flagella adı ile bilinmekte ve spermin hareketini sağlamaktadır (Ross ve Pawlina , 2011).



Şekil 2.6. Spermin Yapısı (Ross ve Pawlina , 2011).

2.1.5 Leydig Hücreleri ve İnterstiye Doku

İnterstiye doku, seminifer tübüllerinin arasında yer alan, sinir, kan , lenf damarlarını ve Leydig hücrelerini içeren gevşek bağ dokusu bölgesidir (Mescher , 2010) . Bu bölgede immün savunmada önemli olan makrofajlar ve mast hücrelerine ayrıca fibroblastlara bulunur. Leydig hücreleri poligonal veya ovoid şekilde gruplar veya tekli halde bulunan yuvarlak nükleusa, asidofilik sitoplazmaya ve çok sayıda granülsüz endoplazmik retikuluma sahip olan hücreler olarak bilinirler. Bu hücreler testosteron yapımından sorumlu olup endokrin salgılama yaparlar. Leydig hücrelerinin sitoplazmalarında çok sayıda lipid

damlacıklarına rastlanmaktadır .Reinke Kristalleri, Leydig hücrelerine özgü inkülüzyon cisimciklerdir. Leydig hücreleri testesteron üretiminin yanı sıra oksitosin, ACTH-MSH, inhibin, aktivin , β büyüme faktörü, β endorfin, methionin- enkefalin, renin- anjiotensin salgılamaktadır (Mescher , 2010).

2.1.6 Sertoli Hücreleri

Sertoli hücreleri, Enrico Sertoli tarafından keşfedilmiştir (Mescher, 2010). Bu hücreler seminifer tübüllerde yer alan spermlerin desteklenmesi, korunması ve beslenmesinde önemli rol oynamaktadır. Bu hücreler ayrıca farklı değerleri, lılaşmamış veya olgunlaşmamış spermatogenetik hücrelerin ortadan kaldırılmasında da önemli rol oynamaktadır. Bu hücreler özellikle seminifer tübüllerin bazal membranlarına yakın yerlerde varlık gösterebilirler yoğun olmamakla birlikte lümene kadar aralıklı rastlamak mümkündür. Bu hücrelerin bölünme yetenekleri bulunmamaktadır. Sertoli hücreleri organel yönünden zengin , ökromatin çekirdekli ve belirgin çekirdekçiklere sahiptir. Bu hücrelerin sitoplazmalarında gelişmiş bol miktarda golgi kompleksi, bol mitokondriyonlar, granüller ve agranüller endoplazmik retikulum, lizozom, lipid damlaları ve glikojen granülleri bulunmaktadır (Ross ve Pawlina , 2011). Sertoli hücrelerinde, yoğun ve paralel filamentler şeklinde Charcot - Böttcher cisimlerine rastlanmaktadır. Sertoli hücreleri arasında zonula okludensler bulunmaktadır. Zonula okludensin hemen altında gap junctionların bağlantısına rastlanır. Sertoli hücreleri arasında bulunan bağlantı kompleksleri kan - testis bariyerinin oluşmasını sağlamaktadır. Bu bariyer germ hücrelerini dışarıdan ve kan yoluyla testislere ulaşan zararlı maddelere karşı korumaktadır. Ayrıca kan – testis bariyeri seminifer tübüllerin iyon aminoasit, karbonhidrat ve protein bakımından farklı değerleri, lı olmasını da sağlamaktadır. Sertoli hücreleri, androjen bağlayıcı protein (ABP), inhibin, aktivin, plazminojen aktivator ve transferrin salgılamaktadır (Mescher, 2010). Anti – Müllerien hormonu embriyonu gelişimi sırasında Müller kanalının gelişimini engellemektedir. ABP, Leydig hücrelerince salgılanan testesteronu bağlayarak seminifer tübül içine alınmasını sağlamaktadır. Sertoli hücrelerinde ABP salgılanmasında FSH rol oynamaktadır (Ross ve Pawlina , 2011).

2.1.7 Rete Testis

Seminifer tübüller mediastinum testiste bulunan rete testise açılmaktadır. Rete testis düzensiz kanallar olmakla birlikte tek katlı kübik veya tek katlı prizmatik epitel sahiptir. Epitelin bazal membrana yakın kısmında bolca kan damarına rastlamak mümkündür (Mescher, 2010).

2.1.8 Duktuli Efferentes , Epididimis ve Duktus Deferens

Rete testisi epididimise bağlayan ortalama 20 adet olup kıvrımlı yapıdaki kanallardır (Mescher, 2010). Kanalların iç kısmında yalancı çok katlı prizmatik epitel ile döşelidir. Bu kanallar girintili çıkıntılı olarak görülmektedir, bunun nedeni ise hücrelerin boylarının aynı olmamasından kaynaklanmaktadır. Bazal membranlarında yer alan kübik hücreler kök hücre görevini göstermektedirler. Spermlerin ilerlemesi prizmatik hücrelerin apikal yüzeylerinde bulunan silyumlar sayesinde gerçekleştirilir (Ross ve Pawlina , 2011).

Epididimis, testisin üst yüzünde yer alan baş, gövde ve kuyruk olmak üzere 3 bölümden oluşmaktadır. Duktuli efferent epididimisin baş bölümünü oluşturur (Mescher, 2010). Epididimis kan damarlarından zengin olup sıkı bağ sokusuna sahiptir. Epididimisin epitelinde Halo hücreleri olarak bilinen lenfositlere rastlamak mümkündür (Ross ve Pawlina , 2011). Spermler, epididimiste hızlı hareket yeteneği kazanır. Epididimisin epitelinde yer alan hücreler Sertoli hücreleri tarafından fagosit edilmemiş olan atıkları fagosit etmektedir ayrıca bu hücreler spermlerin olgunlaşmasına yardımcı olan siyalik asit, glikoprotein ve gliserofosfolini salgılamaktadır (Mescher , 2010).

Epididimis kuyruk bölümünün devamı olarak bilinen ve testisin arkasından karın boşluğuna kadar uzanan yapı Duktus deferens adını alır. Karın boşluğunda hacmini artırıp genişler ve bu sayede ampullayı oluşturmaktadır. Seminal vaziküllerinin kanalları ampulaya girer. Duktus deferens prostata girerek duktus ejakulatoryusu oluşturur. Duktus ejakulatoryusun duvarında kas tabakası yer almamaktadır.

2.2 Erkek Üreme Sistemi Embriyolojisi

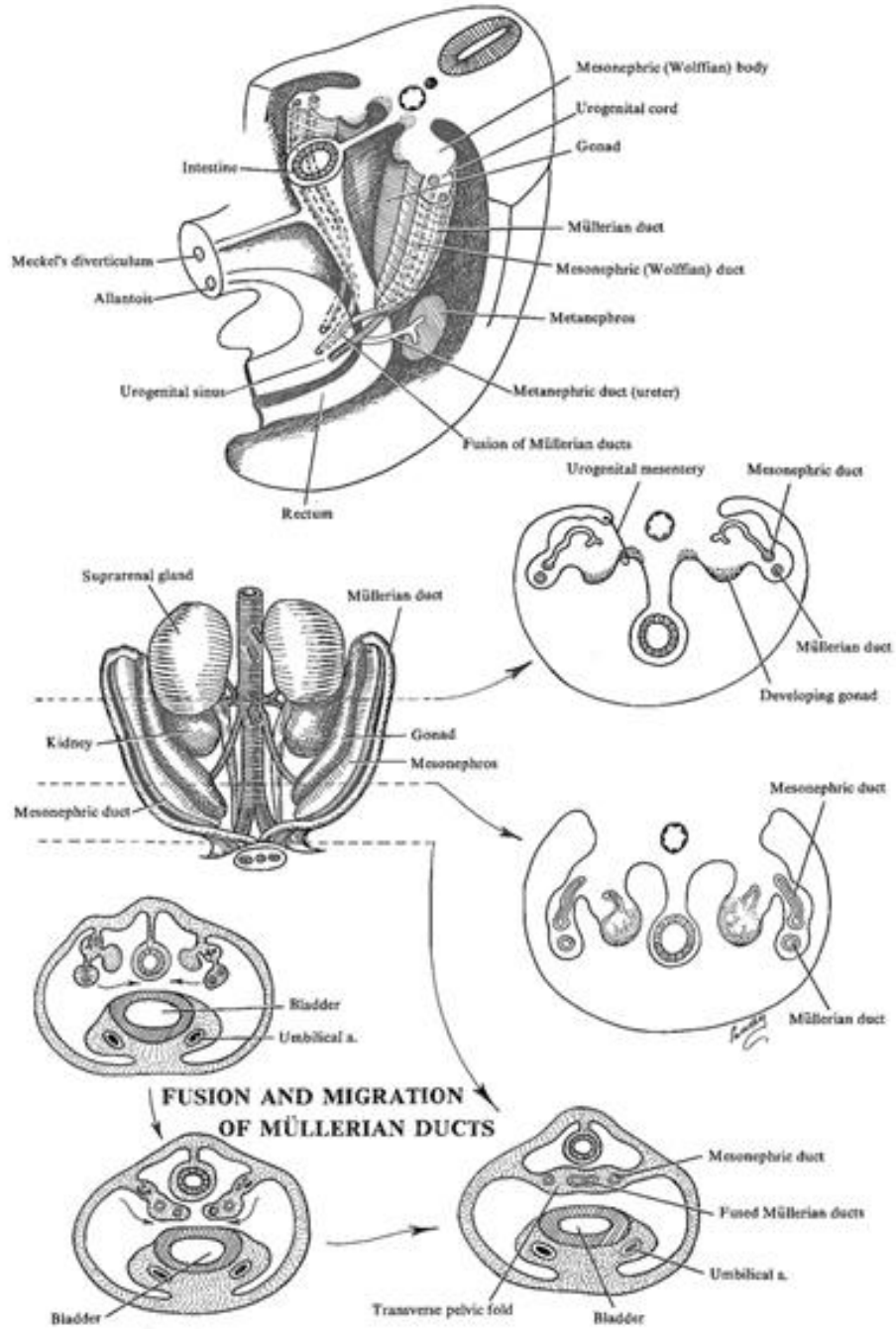
Dişiler ve erkekler için genital sistemin embriyonik gelişimi iki aşamada gerçekleşmektedir. Bu aşamalar Farklanmamış dönem ve Farklanmış dönem olarak . Farklanmamış dönemde her iki türün genital sisteminin morfolojisi birbirine benzemektedir. Embriyonun kalıtsal özellikleri, özellikle cinsiyeti spermden aldığı Y kromozomu üzerindeki SRY geninin belirlemede rağmen gebeliğin 7. Haftasına kadar canlı cinsiyet karakterlerini kazanmamaktadır. Embriyonik gelişim sürecinde embriyo ilk haftalarda diş olma yönünde ön programlamaya sahiptir. 7. Haftaya girildiğinde ise Y kromozomu varlığından dolayı var olan diş karakterler gerilemeye başlayıp erkek karakterler oluşmaya başlar (Sadler, 2011). Farklanmamış gonadlarda dış kısımda korteks, iç kısımda medulla diye adlandırılan bölümde over ya da testise dönüşecek bölümler bulunur. Bu dönüşüm embriyonun içerdiği sex kalıtımına göre değişim göstermektedir. Genel olarak dört farklı hücre grubu genital sistemin gelişiminde ve gonadların gelişiminde etkili olmaktadır. Bu hücreler, mezonefrozun medial bölümünde proliferasyon yapan sölom epiteli; sölom epitelinin hemen alt kısmındaki mezenşim hücreler ; mezenşimin tüm kısmında görülen angiogenik mezenşim ve ilk gelişim dönemlerinde epiblasttan köken alan germ hücreleridir (Pansky, 1982). Bu germ hücreleri gebeliğin 6. Haftasında ameboid hareketlerle gonad kabartılarına hareket ederler. Gonadların şekillenmesi gebeliğin 5. Haftasıyla başlar. Bu gelişim mezonefrozdaki sölom epitelindeki artış ve bu epitelin altındaki mezenşim tabakasının kalınlaşmasıyla ortaya çıkan iki adet uzun kabartıyla belirir. Mezenşimin kalınlaşması gonad kabartıyı ve bu kalınlaşmayı takip eden mezenşim hücrelerinin sıklaşıp yanyana gelmesiyle mezenkimal blastem oluşur. Mezenkimal blastemdeki gelişimin indüklenmesi primordial germ hücreleriyle gerçekleşir (Şekil 2.7) (Pansky, 1982). Primordial germ hücreleri hamileliğin erken dönemlerinde endoderm tabakasından gelişen ve 12-20 µm çapa sahip olan büyük hücreler topluluğudur (Sadler, 2011).

Embriyoda cinsiyeti belirleyen Y kromozomunun kısa kolu üzerindeki SRY genidir. SRY geni Testis Belirleyici Faktör (TDF) olarak bilinmektedir (Ross ve Pawlina , 2011). TDF farklanmamış gonadal kabartının medulla bölümünün testise farklanmasını

sağlamaktadır. Primitif seks kordonları ise erkek üreme sistemindeki seminifer tübüllere dönüşür. SRY geni testislerin gelişiminde olmazsa olmaz bir gen olup TDF ile primitif seks kordonlarını uyararak farklanmamış gonadları medullaya hareket etmesini ve bu kordonların anostomoz yapmasını sağlar (Troy, 2013). Fetüste testis fibröz yapıda tunica albugenia ile örtülmeye başlar. Bu gelişim sırasında seminifer kordonlar seminifer tübülleri, tubuli rekti ise rete testisi oluşturur. Gebeliğin 8. Haftasında androjenik hormonlar salgılanmaya başlar. Testesteron hormonunun artmasıyla birlikte hCG hormonunun miktarında da artış gözlenir. Fötal testislerde testesterona ek olarak AMH (Anti mülleiran hormon) veya MIS (Müllerien inhibitör maddesi) salgılanmaya başlar. AMH paramezonefrik duktusların gelişmesini engeller (Ross and Pawlina, 2011).

Gebeliğin 5. Haftasına kadar gelişim farklanmamış olduğundan 2 tür genital duktus embiyoda gözlemlenmektedir. Gebeliğin ilerleyen haftalarında paramezonefrik Müllerian duktuslar dişi üreme sistemini; mezonefrik (Wolffian) duktus ise erkek üreme sistemini oluşturur. Mezonefrik kanalların (Wolffian) gelişimi SRY geninin Sertoli hücrelerinde AMH'ı aktive etmesiyle sağlanır Sadler, 2011. Böylece Müllerian kanal yok olur ve Wolffian kanallar gelişir. Gebeliğin 6. ve 7. Haftalarında Sertoli hücrelerinde MIS sentezlenir. Gebeliğin 8. Haftasına gelindiğinde ise testislerden salınan testesteron proksimalde mezonefrik tübüller duktus efferenti ve epididimisi ; diğer kısım ise duktus deferens ve ejakulatuar duktusu oluşturur (Ross ve Pawlina, 2011).

.



Şekil 2.7. Erkek üreme sisteminin haftalara göre gelişimi (Pansky, 1982)

Gebeliğin 26. Haftasında ise testislerin hacimce artmasıyla 3 günlük süreyle birlikte testisler skrotuma inerler. Testislerin skrotuma inişi esnasında testis ile birlikte duktus deferens ve damarlarda skrotuma inmektedir (Pansky, 1982).

2.3 Erkek Üreme Sistemi Fizyolojisi

Erkek üreme sisteminin esas ve bilinen en önemli görevi testesteron hormonunu üretmek ve bu hormonun etkisiyle sperm oluşturmaktır. Testesteron hormonu interstial dokudaki Leydig hücreleri tarafından salgılanır. Testesteronun, testis içerisindeki alış-verişi ise birbirine paralel olan a.testicularis ve v.testistularis sayesinde olur testisler ısıya duyarlı olup sperm üretimi için belli bir ısıya ihtiyaç duyulur. Bu ısı dengesi testislerin scrotumlar içerisinde olmasıyla sağlanır. Scrotumlar sıcak havalarda gevşeyip sarkar ve soğuk havalarda m.cremaster kasının kasılmasıyla vücuda yaklaşır ve böylelikle ısı dengelenmiş olur. Testislerin belli bir sıcaklıkta olması sperm yapımı için önemlidir (Ross and Pawlina, 2011).

Spermatogenez 2 hormonun kontrolü ile gerçekleştirilmektedir. Bu hormonların biri Sertoli hücrelerini; diğeri ise Leydig hücrelerini etkilemektedir. Ön hipofizden salgılan Folikül Uyarıcı Hormon (FSH) Sertoli hücrelerinin uyarılmasından sorumlu olup spermatogenez için önemlidir. Lütinize Hormon (LH) yine FSH gibi hipofizden hipotalomusun kontrolü ile salınır ve Leydig hücrelerinden testesteronun salgılanmasını sağlar (Mescher , 2010).

Erkek üreme sistemindeki yardımcı bezlerden salgılanan fruktoz spermin beslenmesini sağlar ve ayrıca üretral ve vajinada bulunan asitin sperme zarar vermemesi için ortamı nötürleştirir. Buna ek olarak bu sıvılar spermin daha rahat hareket etmesini de sağlamaktadır. Ortalama bir semen hacmi 3-4 ml olup içerisinde 300-500 milyon sperm taşır. Semen pH'ı 7.5 civarında bazik özellik göstermektedir (Ross and Pawlina, 2011). Spermin akrozomunda hyaluronidaz ve proteolitik enzimler bulunmaktadır. Bu enzimler vajinanın mukus salgısını eritip spermin hareketine olanak sağlamaktadır. Yumurta fallop tüpüne atıldığında beraberinde granuloza hücrelerini de getirir ve bu hücreler spermin oosit içine girmesini engeller. Sperm yumurtaya ulaştığında Zona pellucidayı geçmesi gerekmektedir. Zona pellucidanın aşılmasıyla birlikte yumurtadan kalsiyum salınımı başlar ve salınımla birçok kortikal granül ekzositoz yardımıyla perivitelin boşluğa bırakılır. Bu granüller sayesinde birçok spermin oosite ulaşması engellenmiş olur (Mescher , 2010).

2.4 Erkek İnfertilitesi

İnfertilite, Dünya Sağlık Örgütü (WHO) 2013 kılavuzunda belirttiği üzere bir çiftin iki yıl boyunca doğal ve korunaksız olarak düzenli şekilde cinsel ilişkiye girilmesiyle istenilen sonuç elde edilememesi durumudur (Menkveld, 2010). İnfertilite sadece kadın veya sadece erkeğe özgü bir vaka olmamakla birlikte her iki türe özgü olduğu ; %50 infertilite vakalarında erkeklerin rol oynadığı belirtilmiştir. Erkek infertilitesinin nedenleri; toplam sperm sayısı, spermilerin morfolojik özellikleri, spermilerin hareketleri ve ejakulat miktarı olarak belirtilmiştir. Erkek üreme sistemi çevresel faktörlere aşırı duyarlılık gösteren bir sistem olduğundan dolayı dışardaki etkenlerin erkek infertilitesine neden olduğu bilinmektedir. Bu nedenler arasında; alkol kullanımı, sigara kullanımı, sağlıksız beslenme, ağır metaller, madde bağımlılığı, stres, obezite, şeker hastalığı, nörolojik hastalıkların birçoğu, enfeksiyon, kistik fibrosis ve varikosel.. vs. yer almaktadır. İdiyopatik infertilite, kadın ve erkeklerde yapılan çeşitli türe özgü testlerde herhangi bir bulgu bulunmayıp genetik, hormonal ve çevresel faktörlere dayanan çok disiplinli bir infertilite çeşitidir (Warren ve ark.,1987).

Spermatozoanların olgunlaşması sürecinde, kapasitasyonun gerçekleşmesinde veya akrozom reaksiyonunun gerçekleşmesinde reaktif oksijen türleri (ROS) büyük önem taşımaktadır. Normal sperm fonksiyonları için normal değerdeki ROS miktarı önemli rol oynamaktadır. Fakat ROS miktarındaki dengelerin değişip aşırı yüksekliği ve düşüklüğü testislere zarar vermekle birlikte sperm yapısında ve sayısında ayrıca kapasitasyonda, hiperaktivasyonda, akrosom reaksiyonunda sperm-oosit birleşmesinde değişikliğe neden olmaktadır ve bu durumda infertilitenin ana etkenleri olarak karşımıza çıkmaktadır (Twigg ve ark.,1998; Warren ve ark.,1987).Reaktif oksijen, mitokondrilerde üretilen bir veya birden fazla elektronun eşleşmemesinden kaynaklanan oksidatif stres ürünüdür. Bu türler karşılına çıkan bütün biyokimyasal elementlerle doğrudan tepkimeye giren kararsız elementler olarak bilinmektedir (Warren ve ark., 1987) .Hücrede NADPH-oxidase, xanthine ve P450 enzimleri ROS'un oluşmasına yardımcı olan enzimlerdir (Agarwal ve ark., 2014). Testislerde bulunan SOD, GST ve GPx aktivasyonu ROS

tarafından etkilenmektedir. ROS miktarındaki herhangi bir artış testislerdeki SOD, GST ve GPx miktarlarını etkileyeceği için sperm yapısını ve üretimini de etkilemektedir. Ayrıca ROS miktarlarındaki artış hücrede bulunan yağ, protein, antioksidan sistem, enzimatik sistem ve DNA yapısında bozukluklara da neden olmaktadır. Testislerde bulunan antioksidan sistem testis yapısını serbest radikallerden korumakla birlikte sağlıklı spermatogenezin oluşması, sağlıklı spermilerin üretilmesine yardımcı olmaktadır. Antioksidan sistemindeki oluşan herhangi bir tahribat sperm parametrelerinin normal değerlerinin değişmesine neden olmaktadır. Spermatozoalarda sitoplazmik enzim onarım sistemleri bulunmadığı için ROS miktarındaki herhangi bir değişiklik yapılarında olumsuz etkiye neden olmaktadır (Aitken ve ark.,2008- Warren ve ark., 1987). ROS'un oluşmasında birçok etken maddenin neden oluşu bilinmektedir. Bunlar; lökositler, varikosel, radyasyon, alkol, madde bağımlılığı, toksik maddeler ve sigaradır (Aitken ve ark., 2008).

Erkek üreme sisteminde antioksidan sistemi oldukça iyi gelişmiştir. Her saniyede 1.000 sperm üretildiği bilinmektedir bu spermilerin sağlıklı ve efektif olması için dışardaki ve içerdeki etkenlerden en az şekilde etkilenmesi gerekmektedir. Bu olumsuz etkenlerin varlığını en aza indirilmesini sağlayan ise antioksidan sistemidir. İki türlü antioksidanın varlığına testis yapısında ve spermelerde bulunmaktadır. Bunlar; hücrelerde doğal olarak bulunan enzimatik antioksidan türleri olan SOD ve GSH olmakla birlikte enzimatik olmayan ve vücuda dışardan sebze ve meyvelerle alınan antioksidan türleridir. Vitamin E , Vitamin C , karnetin, karotenid ve sistein meyve ve sebzelerden alınan enzimatik olmayan antioksidanlar arasında yer almaktadır. (Agarwal ve ark., 2014).

Dünya Sağlık Örgütü (WHO) kılavuzunun örnek alınarak yapılan semen analizleri mikroskopik olarak gerçekleşmektedir. Alınan sperm örneklerinde mililitre başına ≥ 15 milyon spermatozoa, örnekteki spermilerin %32'sinden daha fazlası ilerleyici harekete sahip olması gerektiği ve morfolojik olarak ise %4'ü normal formda olması durumunda bu semen örneği normal (normozoospermik) kabul edilmektedir. Bu semen örneğinde düşük konsantrasyon bulunmakta ise oligozoospermik, semen örneğinde spermilerin %32'den azı haraketsizlik göstermekte ise astenozoospermik ve semen örneğinde

morfolojik olarak anormalilik gözlemleniyor ise teratozoospermik olarak sınıflandırılmaktadırlar (WHO 2010).

2010 yılında yayınlamış olduğu ve belirlenen 5 ayrı yılları içeren semen analizlerinde 2010 yılındaki semen analizinin ilk çalışmasındaki yıl olan 1980 yılına oranla düşüş gösterdiği görülmektedir. Bu değerlerin düşük olması infertilitenin 1980lerden daha fazla olduğunu göstermektedir. Başta sağlıksız beslenme, bol alkol ve sigara tüketimiyle birlikte çevremizde sağlığa zararlı olan toksik ve ağır metallerin artmasıyla infertilite oranlarında artışın ana nedenleri arasında olmaktadır (Menkveld, 2010).

2.5 Kadmiyum

Kadmiyum, 1817 yılında Fridrich Strohmeyer tarafından bulunan beyaz renkli katı bir kimyasal elementtir. Cd sembolik kısaltmasıyla bilinen ayrıca düşük erime noktasına sahip, ağır bir metaldir. Kadmiyum nemli ortamlarda oksitlenen ve havada kendini koruyan bir yapıya sahiptir. Kadmiyum elementinin iki bileşeni bilinmektedir; bunlar kadmiyum sülfat ve kadmiyum sülfittir. Kadmiyum sülfat; Kadmiyum oksitin sülfürik asitle reaksiyona girmesiyle oluşan ve suda oldukça fazla çözünen fakat alkol içerisinde çözülmeyen bir çeşittir. Birçok sülfatla tepkimeye girerek tuzları oluşturur. Kadmiyum sülfid; CdS olarak bilinen ve metalik kadmiyumun nemli ortamda uzunca bir süre kalmasıyla birlikte yüzeyinde renk değişimine uğrayıp sarı renge dönüşmektedir. Bu sarı rengin nedeni sülfür tabakasından dolayıdır. Özellikle tekstil, kağıt, sabun ve endüstride kullanılan sarı rengi veren tek kaynak olarak bilinmektedir (Peggy ve ark.,1977).

Kadmiyum, ağır metaller sınıflamasına giren ve çevre kirliliğine neden olan bir elementtir. Her yıl %2'lik bir artışla Dünya'daki varlığını sürdürmektedir (Sponmenka ve ark.,1997). Kadmiyum çevre kirliliğinin yanında ayrıca bütün canlılara zararlı etkiye neden olan toksik bir metaldir. Kadmiyum özellikle çinko üretimini için kullanılmaktadır ayrıca şarj edilebilir bataryalar/ piller, plastik materyaller, boyaların içerisindeki renklendiricilerde, kadmiyum kirliliğinden etkilenmiş sulardan beslenen hayvan (balık) veya bitkilerin bu su ile temasından dolayı insan ve hayvan yiyeceklerinde bulunmaktadır

(Imafidon ve ark., 2016). Sigaranın özellikle insan sağlığı üzerindeki olumsuz etkisi bilinmekle birlikte bir paket sigarada ortalama 16 µg kadmiyum bulunmaktadır bu durum ise sigara içenlerin içmeyenlere göre %50 olumsuz etkiye sahip olduğunu göstermektedir (Erboğa ve ark., 2011). Sigara kullanan ve kullanmayanların karaciğer, kan ve testis yapıları kıyaslandığında ise sigara kullananların kadmiyumdan dolayı etkilendikleri grlmştr (Erboğa ve ark.,2011). Kadmiyumun özellikle insan ve hayvan sağlığı üzerinde zararlı ve kalıcı etkisi bulunmaktadır. Günlük yaşantımızda büyük yere sahip olan kadmiyum alımı aylık 25 µg/kilo'yu geçmesi durumunda canlılarda toksik etkiye neden olmaktadır (elik ve ark., 2017) . Kadmiyum doğrudan solunum yolu ile veya yiyeceklerden vücuda girdikten sonra böbrekler, karaciğer, iskelet ve üreme sistemi üzerinde doku ve organ bütünlüğünü bozucu etki göstermektedir. Öyle ki kadmiyumun vücutta yarılanma süresi 10-35 yıl arasında değişmektedir (elik ve ark., 2017). 1900'l yılların sonlarına kadar kadmiyum insanda olası kansere neden olan bir ajan olarak Group 2A'da yer almaktaydı fakat daha sonra günlük hayatta kadmiyum kullanımının artması ve yaşantıya büyük lde dahil olup bir çok çalışmada zararlı etkileri tespit edilince Dünya Sağlık rgt (WHO)'nun belirlemiş olduğu insanda kanser yapan maddeler arasında Group I'e yükselmiştir .özellikle akciğer, prostat, böbrek ve meme kanserine neden olduğu saptanmıştır(elik ve ark.,2017 ; WHO; 2010).

Kadmiyum kalsiyuma çok yakın iyon yarıçap ı bulunmasından dolayı bağırsaklardaki kalsiyum pompalarında kalsiyum yerine emilmekte, D vitamininin proksimal tblerde inaktif durumdan aktif duruma geçmesini engellemektedir. Kalsiyum yerine emilen kadmiyum byece doğrudan kana geçmektedir. Böylece kemiklerde kalsiyum yerine depolanmaktadır. Kalsiyum yerine depolanan kadmiyum kemik dokusunun yenilenmesini g kılmakta böylelikle kemikler yavaşça zayıflamaya başlamakta, mekanik glere karşı aşırı duyarlı ve hassasiyet belirtisi göstermekte ve daha sonra osteoklastları aktifleştirerek kemik erimesi ve kırılmasının başlamasına neden olmaktadır . Kadmiyumun neden olduğu hastalıklar arasında en yaygın bilinen İtai-itai hastalığıdır (Ayla ve ark.,2015; Engstrmve ark.,2012). Itai itai hastalığı kadmiyuma bağlı Japonyanın Toyama eyaletinde gözlemlenen ve 1910-1970 yılları arasında varlık

gösteren: kadmiyuma bağlı oluşan ilk hastalık olarak tıp dünyasında yerini almıştır (Engström ve ark.,2012). İnsanlarda kronik kadmiyum zehirlenmesi olarak bilinen bu hastalık ilk olarak eyaletteki kadmiyum madeninde çalışan işçilerde ve daha sonra madenin atıklarının suya karışması, suda yaşayan balıkların bundan etkilenmesi, bu sularla sulanan pirinç tarlalarından pirinçlere geçmesi, pirinç ve balıklarla beslenen yerel halka kadmiyumun ulaşmasıyla bu hastalık 1910 ve 1970 yılları arasında artışa neden olmuştur. Başlangıçta insanlarda kısa sürede beliren kemik ve eklem ağrılarına anlam verilememiş, ilerleyen zamanda böbrek yetmezliği ve anemi belirtileri ortaya çıkmıştır. Bu hastalık kadmiyumun kemik dokusu üzerinde ne kadar büyük etkiye sahip olduğunu büyük örneği ve kanıtıdır. Kadmiyum, kemiklerde D vitamini, alkali fosfat ve osteokalsin seviyelerini düşürmekte bunlara ek olarak kemik yapım öncüsü olan osteoblast kaynaklı gen ekspresyonunu düşürmektedir. Bu nedenlerden ötürü kemik hasarlarında belirginleşme, spontan kemik kırılmaları ve osteoporoz gerçekleşmektedir (Engström ve ark.,2012; Nawrot ve ark.,2010).

2.5.1 Kadmiyum ve Erkek Üreme Sistemi

Kadmiyum bazı organlarda toksik etki yapmaktadır. Kadmiyum, erkek üreme sistemi doğrudan yapısal ve fonksiyonel olarak etkilenmektedir. Kadmiyum erkek üreme sisteminde geri dönüşümsüz ve kalıcı hasarlara yol açmaktadır. Erkek üreme sisteminde kadmiyum özellikle testisleri etkilemektedir (Erboğa ve ark.,2011). Kadmiyum testis yapısında, şeklinde, boyutunda ve renginde değişmelere neden olduğu ayrıca ödeme neden olup kan damarlarında değişikliğe ve hücre ölümüne sebep olduğu kanıtlanmıştır. Kadmiyum endotel hücreleri üzerinde hasara neden olmaktadır, yapısı bozulan endotel hücreleri fonksiyonlarını yerine getirememektedir. Kadmiyum ağır metaller grubunda yer aldığından dolayı oluşan hasarların tedavisi olmamakla birlikte sadece boyutları küçültülmektedir (Peggy ve ark., 1977).

Kadmiyum'un vücutta varlığı 24 saati geçtiğinde testislerde ve epididimiste bulunan kan damarlarında yapısal bozukluklar ve bunları takip eden dokuda hemorajiye neden olmaktadır (Erboğa ve ark., 2011; Singh ve ark., 1968). Bu kanlanmalar testislerde bulunan damarların kadmiyumun etkisiyle zarar gördüğünü kanıtlamaktadır (Peggy ve ark., 1977; Qing ve ark., 2013) şekil 11. Kan damarlarındaki yapısal değişiklik kan-testis bariyerini de olumsuz etkilemekte ve geçirgenliğini bozmaktadır (Lucis ve ark., 1970). Kan damarlarında meydana gelen değişikliği takiben dokuda oluşan kanlanma dokunun sıcaklığının değişmesine yol açmaktadır (Gunn ve ark., 1962). Kadmiyum injeksiyonundan sonra canlının sıcaklığının artmaya başladığını ve 105 dk sonra canlının eski sıcaklığına kavuştuğu bilinmektedir. Dört saat kadmiyuma maruz kalan bir canlıda damar, seminifer tübülleri ve böbrek tübüllerinde geçirgenliğinin normale göre değişmeye başladığı ve buna bağlı olarak hemorojinin başlayıp arttığı görülmüştür ayrıca testis dokusunda nekrozis ortaya çıkmaktadır (Lucis ve ark. 1970; Meek ve ark., 1959)

Sertoli hücrelerinde oluşan hasarlar sperm yapımını etkilemekle birlikte, sperm sayısında düşmeye neden olmaktadır. Uzun süreli kadmiyuma maruz kalan canlılarda ise canlı sperm sayısında azalma ve morfolojik olarak sperm yapısında değişmelere neden olduğu kanıtlanmıştır. Kadmiyumun ayrıca Sertoli hücreleri arasındaki bağlantıya ve etkileşimi de hasar verdiği görülmüştür (Peggy ve ark., 1977). Kadmiyuma bağlı sperm sayısındaki düşüşün uzun sürede inferteliteye neden olduğu düşünülmektedir. Kadmiyuma 24 saat maruz kalan bir canlıda seminifer tübüllerindeki yapısal bozuklukların başladığı ve çok çekirdekli giant hücrelerinin oluştuğu görülmüştür (Meek ve ark., 1959). Kadmiyumun dozunun ve maruz kalma süresinin artmasından dolayı tunika albugeniada yapısal değişikliklerin olduğu gözlemlenmiştir (Meek ve ark., 1959).

Kadmiyum interstiyel doku üzerinde de kalıcı hasarlara yol açmaktadır. Kadmiyum canlıda varlığını 24 saat sonra belli etmeye başlamakta ve 24 saati geçtikten sonra ise etkinliğini artırmaktadır (Peggy ve ark., 1977). Testesteron hormonunun yapımından sorumlu olan Leydig hücrelerinde geri dönüşümsüz hasarlar oluşmaktadır. Kadmiyum kullanımının artmasıyla birlikte testesteron sentezinin azaldığı görülmüştür. Bu hasarların

bir bölümü antioksidanlar ile az da olsa tedavi edildiği ve testislerde yer alan olumsuzlukların küçük ölçüde tedavi edildiği tespit edilmiştir (Qing ve ark., 2013).

Kadmiyum tüm hücrelerde toksik etki yaratan en önemli ağır metaller arasında yer almaktadır. Özellikle üreme sistemi üzerindeki kalıcı hasar yaratmasından dolayı kısırlığa yol açtığı bilinmektedir. Kadmiyumun dozu, kısırlık ve kanser üzerinde çok büyük etken olmaktadır. Uzun süre kadmiyuma maruz kalan birçok canlıda kadmiyumun hücrelerde yarattığı olumsuz etkilere rastlanmaktadır (Yang ve ark., 2006).

Kadmiyum erkek üreme sistemi üzerinde başta seminifer tübüllerinin yapısı olmak üzere, sperm üretimi, testesteron üretimi, testisin morfolojisinde, testis fizyolojisinde ve intertisyel dokularda yapısal bozukluğa neden olmaktadır. Seminifer tübüllerinde döküntülere, seminifer tübüllerinin hacminin, kalınlığının ve ağırlığının azalmasına; intertisyel dokunun bütünlüğünün kaybedilmesine böylelikle intertisyel doku içerisinde yer alan Leyding hücrelerinde yapısal değişikliğe ve bu değişiklik sonucunda Leyding hücrelerinin esas özelliği olan ve erkeklik hormonu olan testesteronun üretilmemesine; spermlerde yapısal değişiklik yaratılmasına böylelikle sperm yumurta döllemesini olumsuz etkilemeye; seminifer tübüllerinde yer alan sertoli hücrelerinin görevlerini yerine getirememesi neden olmaktadır. Ayrıca seminifer tübüllerinde çok çekirdekli giant hücrelerinin oluşması seminifer tübüllerinde kadmiyumun oluşturduğu zararın en önemli belirteçlerinden olmaktadır. Kadmiyumun erkek üreme sistemindeki birçok değişikliğe neden olmasından dolayı testislerde yarattığı histolojik bir çok yapısal değişiklikler testislerde ağırlık kaybının yaşanmasına neden olmaktadır. Bu ağırlık kaybında kadmiyumun dozu da önemli yer teşkil etmektedir (Agarwal ve ark., 2014).

2.5.2 Kadmiyumun Erkek Üreme Sisteminde Oluşturduğu Oksidatif Stresse Karşı Antioksidantların Etkisi

Kadmiyumun en büyük ve bilinen yan etkisi hücrelerde oksidatif stresi artırması ve buna bağlı olarak hücre yapısında hücre zarından başlayarak hücrenin çekirdeğindeki DNA'ya kadar olumsuz yönde etkilemesidir. Hücrelerde daha sonra dokularda oksidatif

stresin artması başta kronik hastalıkları oluşturmakla birlikte ve yaşlanmaya sebebiyet vermektedir. Uzun süreli kadmiyuma maruz kalan canlılarda olumsuz etkilerin geri dönüşümü yapılmamakla birlikte hücre ölümleri ve doku nekrozları görülmektedir. Kadmiyum hücre içerisinde hücrenin antioksidant savunma mekanizmasını engellemekte ve böylelikle hasarlara yol açmaktadır. Kadmiyum antioksidant sistem enzimleri olan CAT, POD, SOD ve GSH seviyelerinde düşüşüne neden olmaktadır (Atef ve ark., 2010 ; Jahan ve ark.,2014). Hücrelerde var olan CAT, POD, SOD ve GSH seviyelerindeki düşüş antioksidant sisteminin gerekli savunmayı yapamamasına ve böylelikle kadmiyumun hücre içerisinde toksisitesini artırmasına neden olmaktadır (Imafidon ve ark., 2016). Oksidatif stres vücudumuzda sağlıklı hücrelerle tepkimeye girerek onların yapısını hücre zarından başlayarak var olan hücre bütünlüğüne olumsuz yönde etkilemektedir (Kini ve ark., 2018). Kadmiyum özellikle hücreler ve canlı için ağır bir toksik madde olmakla birlikte oksidatif stresi artırmakta ve var olan antioksidan sistemi bozmaktadır. Antioksidan savunma sistemi hücreyi toksik maddelerin zararlı etkilerinden koruyan en önemli sistemlerden biridir. Bu sistem hücrenin toksik maddelere karşı hücre bütünlüğünün bozulmasını engellemektedir. Antioksidan özelliğe sahip maddeler olarak bilinen Vitamin E , Vitamin C ve PCA (Protocatechuic acid) oksidatif stresin zararlarını önlemek için birçok çalışmada kullanılmış ve sonuçları olumlu olarak kaydedilmiştir (Ognjanović ve ark., 2003).

2.6 Corchorus Olitorius

Corchorus Olitorius, Tiliaceae ailesine mensup Afrika, Asya, Çin, Bangladeş, Japonya, Tunus, Filipin, Tahland, Senegal, Sudan, Lübnan, Kenya ve Akdeniz ülkelerinde sıkça rastlanılan bir bitki türüdür (Calavi ve ark., 2018) . Geçmiş yıllarda bu bitki Mısır'da kendi anayurtlarının sembolü olarak kullanılmıştır (Zeghichi ve ark., 2003). Kıbrıs'da ve Japonyada bu bitkiye Molehiya denmektedir.(Yoshiakawa ve ark., 1997) Yeşil yapraklı ve yeşil saplı olan bu bitki ortalama 90-120 cm'e ulaşmakla birlikte 6-10 cm arasında yaprakları bulunmaktadır. Bu bitkinin küçük sarı çiçekleri bulunur, tohumları ise siyah renkli ve kapsülleri içerisinde yer almaktadır (şekil 2.7) (Calavi ve ark.,2018). Tohumlarının tüketilmesi halinde ishale neden olduğu bilinmektedir . Bu bitki yaz

aylarında toplanmakta ve kurutulup özellikle kış aylarında yemeği ve çorba yapılarak tüketilmektedir (Zeghichi ve ark.,2003).

Tür	Corchorus Olitorius
Cins	Corchorus
Aile	Tiliaceae
Takım	Malvales
Sınıf	Angiospermae

Tablo 2.1. Corchorus Olitorius bitkisinin Taxonomisi (Zeghichi ve ark., 2003).



Şekil 2.8. Corchorus Olitorius bitkisinin yaprakları ve çiçeği (50)

Corchorus Olitorius özellikle potasyum , vitamin B6, vitamin A , vitamin C, vitamin E, mineral (demir, potasyum, fosfor , kalsiyum, magnezyum,sodyum, çinko), amino asit, folik asit , β - karoten , ALA (α - linoic asit) ve yağ asitleri bakımından oldukça zengindir (Calavi ve ark.,2018 -Singh ve ark.,1968). Vitamin B6, Vitamin A, Vitamin C, Vitamin E, Vitamin B3 ve β - karoten vücutta serbest radikallerin hücrelere zarar vermesini engellediği bilinmektedir. Bunun yanında Corchorus Olitorius içerisinde bulunan α - linoic asit kalp rahatsızlığını engellediği açıklanmıştır (Zeghichi ve ark.,2003). Corchorus Olitorius ağrı giderici, kan şekeri ve tansiyon düzenleyici, kalp rahatsızlıklarını

önlemede, çocukların büyüme ve gelişmesini sağlamada, kemik erimesini engellemede, kramp oluşumunun önlenmede, ülser tedavisinde , sıtma hastalığı tedavisinde ve ateş düşürücü olarak çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır. (Calavi ve ark.,2018). Kozmetik ürünlerinde de kullanılan bu bitki el ve yüz kremlerinde, saç toniklerinde ve losyonlarda yer almaktadır (Zeghichi ve ark.,; 2003). Özellikle yaprakları mesane iltihabı, ateş düşürmede, soğuk algınlığı tedavilerinde kullanılmaktadır. Bitkinin damarlı yapısı fiber yapısında olup kıyafet, çanta, halat, ip gibi eşyaların yapımında değerlendirilmektedir (Calavi ve ark.,2018). Ayrıca kurutulmuş olan yaprakları Japonyada kahve ve çaylarda, çiçekleri, kökü, yaprakları ve tohumu bir çok ilaç yapısında kullanılmaktadır. Sıçanlarda yapılan deneylerde ise yapraklarının kan glukoz değerini dengelediği kanıtlanmıştır. Çekirdekleri antibakteriyel özellik göstermektedir. (Calavi ve ark.,2018). Kültür çalışmasında kanser hücrelerine karşı etkili olduğu, antioksidan etkisinin bulunduğu tespit edilmiştir (Soykut ve ark.,2018).

2.7 Protocatechuic Asit (PCA)

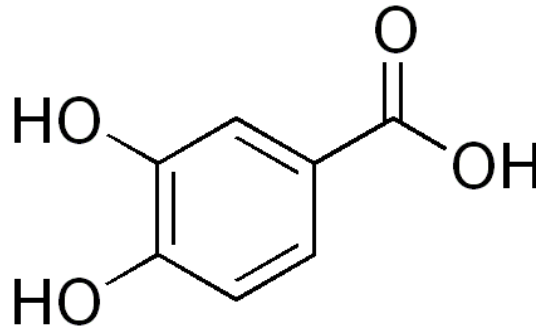
Protocatechuic asit 3,4-dihydroxy benzoik asit olarak bilinmektedir. Canlılar 10.000 ppm PCA' yı tolere edebilecek özelliğe sahip iken daha fazlasını tolere edememekte ve bu durum ise canlılarda zararlı etkilerin oluşmasına neden olmaktadır. PCA başta zeytin, beyaz üzüm, soğan, badem, fındık, elma, kivi, avakado, mango, armut, kahverengi buğday, soya fasulyesi, dut meyvesi, dağ mersini, erik, kıızılcık, mantar, havuç, çilek ve bal gibi birçok sebze ve meyvede bulunmaktadır (Kakkar ve ark.,2014). Tabloda bazı yiyeceklerde bulunan PCA değerleri gösterilmiştir.

Yiyecekler	PCA Değerleri
Avakado	2.4 $\mu\text{mol/Kg}$
Bal	140 $\mu\text{mol/Kg}$
Mango	2,5 $\mu\text{mol/Kg}$
Kırmızı soğan	130 $\mu\text{mol/Kg}$
Armut	3 $\mu\text{mol/Kg}$

Elma	31 µmol/Kg
Mango	2,5 µmol/Kg
Badem	0.26 mg/100gFW
Çilek	6.00 mg/100 gFW

Tablo 2.2. Bazı yiyeceklerde bulunan PCA değerleri (58,59)

PCA kristal toz şeklinde grimsi bir renge sahip olup hava içerisinde renksiz olmalarından dolayı farklı değerleri, edilmemektedir. PCA , 221°C 'de erimekte , 410 °C'de kaynamaktadır. Suda çözünmemenin yanı sıra alkol ve eterde çözünmektedir. Kuvvetli baz özelliği göstermektedir. Fazla miktardaki PCA akciğerlere, göze ve deriye zarar vermektedir. PCA'nın kimyasal yapısı şekil 2.8'teki gibidir (Kakkar ve ark.,2014).



Şekil 2.9. PCA'nın kimyasal yapısı (Kakkar ve ark.,2014)

PCA'nın vücut için bilinen en önemli görevi antioksidan özelliğinin olmasıdır. Antioksidan özelliği sayesinde vücutta toksik maddelere karşı koruyucu etkiye sahiptir. Antioksidan etkisinin alfa tocopherollerle karşılaştırıldığında 10 kat daha güçlü olduğu görülmüştür (Tanaka ve ark.1993). PCA oksidatif stresse karşı, yağ peroksidasyonunu düşürücü, kötü kolestrolü düşürücü, hücrede SOD'u düşürücü, reaktif oksijeni düşürücü, apoptosisi engelleyici, hücrede MDA seviyesini düşürücü, hücrede GSH-PX aktivitesini artırıcı ve DNA fragmasyonunu engelleyici görevi bulunmaktadır. Böylelikle PCA

oksidatif stresin oluşturacağı hücre ölümlerine karşı koruyucu etki oluşturmaktadır. PCA oksidatif stresin sinyal yolaklarını inhibe etmesinden dolayı oksidatif stresin oluşturacağı olumsuzlukları böylelikle engellemektedir. Yapılan birçok çalışmada çoğu toksik element organlardaki CAT,SOD,GPx, GSH ve TBARS'ın değerlerini d ş rd ğu fakat PCA'nın bu düşüşü engellediği ve bu maddelerin normal serumlardaki değerlerine çıkardığı g r lm şt r. CAT,SOD,GPx ve GSH antioksidan savunma mekanizmasında görev alan elementlerdir bu yapıların hücre içerindeki değişikliği hücrenin savunma mekanizmasının düşmesine ve hücrenin zarar görmesine neden olmaktadır (Beytur ve ark.,2011).

PCA'nın antibakteriyel özelliği, ağrı dindirici etkisi, karaciğeri toksik maddelerin zararına karşı koruyucu etkisi, antidiabet, antikanser ve antiviral özelliği, kalp fonksiyonlarını düzenleyici görevi, bağışıklık sistemini güçlendirici etkisi , sinir hücrelerini koruma gibi birçok özelliği bulunmaktadır (Olorunfemi ve ark.,2018). PCA, canlıda glukoz dengesini sağlayıcı göreve sahiptir. Bu özelliği sayesinde diyabet hastalığı oluşmasını engellemektedir. Ayrıca hücrede olası bir mutasyon veya başka bir nedenle ortaya çıkan tümörlerin oluşumunun engellenmesi ve hücrede bakterilerin büyümesini engellemek gibi özelliği de bulunmaktadır. Hücredeki MDA seviyesinin artması ve GSH-Px seviyesinin azalması hücrelerinin erken yaşlanmasına neden olmaktadır. PCA'nın hücrede MDA seviyesinin düşürmesi ve GSH-Px seviyesinin artırması özelliği ile yaşlanma karşıtı olduğu bilinmektedir (Olorunfemi ve ark.,2018; Adedara ve ark.,2018). Toksik elementler başta böbrek, karaciğer ve üreme sistemleri organları olmak üzere çoğu organlarda kalıcı zararlara neden olmaktadır. Özellikle toksik elementler erkek üreme sistemindeki doymamış yağ asiti yapısındaki hücre zarlarını kolayca etkilemektedir, sperm yapımında azalma ortaya çıkmaktadır. Ayrıca bu hücrelerin yapısını kalıcı olarak değiştirdiği yapılan çalışmalarda belirtilmiştir(Tanaka ve ark.,1993). PCA'nın sperm sayısını artırdığı, morfolojisindeki değişiklikleri engellediği,  l  spermilerin varlığını azalttığı g r lm şt r. Sperm miktarı ve yapısındaki değişikler erkeklerde kısırlığa neden olduğu bilinmektedir. PCA'nın sperm üzerindeki olumlu etkisinden dolayı kısırlığı engellediği bilinmektedir (Adedara ve ark.,2018).

PCA endokrin sistem üzerinde de olumlu etkiye sahiptir. Özellikle hipotalamus aktivitesinin toksik ajanların olumsuz etkilerine karşı koruduğu bilinmektedir (Adedara ve ark.2018). Gonodotropin hormonları olarak bilenen FSH ve LH hormonları hipofizin ön lobundan salgılanan ve hipotalamusun kontrolünde olan hormonlardır. Bu hormonlar testesteron yapımını doğrudan etkilemektedir. LH, Leydig hücrelerini uyarak sperm yapımının gerçekleşmesini sağlayan testesteron hormonunu salgılatır (Adedara ve ark.2018). Toksik ajanlar testis yapısında oksidatif strese bağlı kalınarak hücre ölümüne neden olmaktadır. Leydig hücreleride oksidatif etkilenmekte ve testesteron yapımı düşmektedir, sperm sayısında ve yapımında da düşüş gözlemlenmektedir (Chedrese ve ark.,2006). PCA toksik ajanların Leydig hücrelerinde yaratmış olduğu olumsuz etkileri azalttığı ve belli bir düzene getirdiği bilinmektedir (Adedara ve ark.,2018).

3.GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada Yakın Doğu Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma Merkezi (DEHAM) tarafından yetiştirilen 170-250 gr ağırlığında 2-3 aylık genç ergen erkek Wistar albino türü sıçanlar kullanıldı. Denekler rastgele 6 gruba ayrıldı. Denekler, günlük normal düzeninde 22°C oda ısısında ve 12 saatlik karanlık/ aydınlık ortamda besin ve su kısıtlaması olmaksızın yetiştirildi.

Grup 1 (n=6): Kontrol grubu

Grup 2 (n= 6): 3.5mg/kg/hafta intraperitoneal olarak Cd uygulanan grup.

Grup 3 (n= 6): 20mg/kg oral olarak Protocatechuic Asit uygulanan grup.

Grup 4 (n=6): 250 mg /kg oral olarak Corchorus Olitorius uygulanan grup.

Grup 5 (n= 6): 250 mg /kg oral olarak Corchorus Olitorius ve 3.5mg/kg/hafta intraperitoneal olarak Cd uygulanan grup

Grup 6 (n=6): 20mg/kg oral olarak PCA ve 3.5mg/kg/hafta intraperitoneal olarak Cd uygulanan grup

3.1 Malzemelerin Hazırlanışı

Kadmiyumun hazırlanması; Cd, 3.5 mg/kg haftada bir kez intraperitoneal olarak deneklere uygulandı. İlaç deneklere verileceği gün hazırlandı ve aynı gün deneklere uygulandı:

1. 36 mg Cd hassas terazide ölçüldü.
2. Tartılan kadmiyum 50 ml falkonlar içerisine alındı
3. Falkonun içerisine 36 ml serum fizyoloji eklendi.
4. 1 dakikalık vorteks yardımı ile çözüldü
5. 4 ayrı ependorf içerisine alındı.
6. Ependorfların 4'e bölünmesinin sebebi ise her hafta bir ependorf içerisindeki Cd'un serum fizyoloji içerisinde çözünerek 0.3 cc Cd olarak her hayvana ayrı ayrı uygulanacak olmasından dolayıdır.

Protocatechuic Asit (PCA) hazırlanması; Protocatechuic Asit (PCA), 20 mg/kg/günlük oral gavaj olarak deneklere verildi.

1. PCA 144 mg olarak hassas terazide tartıldı.
2. Ardından 50 ml falkon içerisine alındı
3. Falkona distile su eklendi
4. Falkon etüvde 60 °C de 10 dakika bekletildi
5. Ardından 3 dakika vortekste karıştırıldı

Corchorus Olitorius hazırlanması; Corchorus Olitorius , 250 mg /kg / günlük oral gavaj olarak hayvanlara verildi. Corchorus Olitorius Eczacılık Fakültesinde hazırlandı

1. Organik Corchorus Olitorius Doğancı köyünden demetler halinde toplandı.
2. Daha sonra sapı ve yaprakları birbirinden ayrıldı
3. Corchorus Olitorius steril ortamda yaprakları kuruyuncaya kadar 15 gün bekletildi
4. Ardında kurutulmuş yapraklar toz haline getirildi
5. Toz haline getirilen 530 gr C. Olitorious hassas terazi yardımı ile tartıldı.
6. Tartılan 500 gr C. Olitorious perkülatöre kondu.
7. Perkülatörde bulunan C. Olitoriusun üzerine %96 etanol eklenip 24 saat beklendi.

8. Yirmidört saat sonra perkülatörde biriken C. Olitorious sıvısı balon jojenin net ağırlığı terazide tartıldıktan sonra içerisine konuldu
9. Evaporatör 200min 45°C ısıya ayarlandı
10. Ardından balon joje evaporatöre kondu.
11. Bir saat ardından balon jojenin içerisindeki kimyasal uçmaya başladı ve C. Olitorius jojenin kenarlarında birikmeye başladı
12. Jojenin çevresinde oluşan C. Olitorius spatula yardımı ile kazındı
13. Kazınan C. Olitorius hassas terazide tartıldı.

Yakın Doğu Üniveristesi Sağlık Bilimleri Enstitüsünde yapılan bir tez çalışmasında Lefkoşa yöresinden toplanan CO bitkisinin analizi yapılmış olup içerdiği bileşikler aşağıda gösterilmiştir (Soykut ve ark., 2018).

Rt	[M-H]	MS ²	Identified as	Extract
4.1	341	179, 161	Caffeoyl glucose	W
4.7	353	191, 179	3-Caffeoylquinic acid	W
9.9	463	299, 271, 255	Quercetin glucoside	W
10.9	505	299, 271, 255	Quercetin acetylglucoside	W
11.5	515	353, 191, 179, 173	3,5-Dicaffeoylquinic acid	W
12.1	515	353, 191, 179, 135	1,3-Dicaffeoylquinic acid	W
12.6	489	284, 255, 227	Luteolin / kaempferol acetylglucoside	W

Deney süresi olan 3 hafta sonunda deneklerin vücut ağırlıkları tartıldı. Tüm işlemler etik kurallara uygun olarak gerçekleştirildi. Tüm deneklere ketamin + xylazin anestezisi yapıldı ve intrakardiyak kan alındı. Testis ağırlıkları tartıldı. Deneklerden alınan testisler %10'luk Formaldehit solüsyonuna konuldu. Tespit sonrası dokular yıkandı, dereceli etil alkollerden geçirildi, şeffaflaştırma ksilen ile yapıldı. Işık mikroskopi takibi için dokular 12 saat süren Leica Marka Doku Takip cihazına konuldu. Tablo 3.1 de belirtilen sürede ve aşamalardan dokular geçirilip parafin bloklar hazırlandı.

Olay	Süre
%10 formaldehit	1 saat
Su	1 saat
%50 Alkol	1 saat
%60 Alkol	1 saat
% 70 Alkol	1 saat
%80 Alkol	1 saat
%100 Alkol	1 saat
Ksilen	1 saat
Ksilen	1 saat
Parafin I	45 dakika
Parafin II	45 dakika

Tablo 3.1 . Doku tespiti aşamaları

Doku tespitinin ardından dokulardan parafin bloklar hazırlandı. Parafin bloklardan rotatif mikrotom yardımıyla 5µm’lik kesitler polizinli ve normal lamlara alındı. Hazırlanan kesitler Histolojik incelemeler için Hematoksilen-Eosin, MassonTrikrom ,TUNEL ve PAS ile boyandı.

Hematoksilen- Eosin boyama prosedürü;

HEMATOKSİLEN:MERCK HX69657153/ ALMANYA

EOSİN : MERCK HX69574839/ALMANYA

1. Dokular 90 dakika 60 °C etüvde bekletildi
2. Etüvden sonra hemen sıcak ksilole alındı ve 1 dakika sıcak ksilolde bırakıldı.
3. Sıcak ksilolun ardından 1 dakika oda sıcaklığındaki ksilolde bekletildi
4. Ardından 1 dakika daha oda sıcaklığındaki ksilolde bekletildi
5. Ksilol işlemleri tamamlandıktan sonra hemen %100 Alkolde dokular 1 dakika bekletildi
6. % 100 alkolun hemen ardından 1 dakika dokular %80’lik alkolde 1 dakika bekletildi

7. Dokular alkol işlemlerinden hemen sonra 1 dakika distile suda bekletildi.
8. Alkolün dokulardan uzaklaştırılmasıyla dokular Hematoksilende 1 dakika bekletildi
9. Hematoksilenden hemen sonra 30 sn asit alkolda bekletildi
10. Dokular asit alkoldan sonra %80'lik alkol için alındı
11. Dokular alkoldan çıkarıldıktan sonra 1 dakika boyunca Eosinde bekletildi ve hemen yıkandı
12. Yıkanan dokular 1 dakika %95'lik alkol içerisinde bekletildi
13. Dokular daha sonra %100 alkolde 1 dakika bekletilip oda sıcaklığındaki ksilol içine alındı
14. Ksilol I'den sonra dokular oda sıcaklığındaki Ksilol II'ye alınıp 1 dakika bekletildi.
15. Dokular entellan kullanılarak lamel ile kapatıldı.

Masson Trikrom boyama prosedürü;BİO-OPTİCA 04-010802-MİLAN/İTALY

1. Dokular 1 dakika sıcak ksilolde bekletildi
2. Ardından oda sıcaklığında olan ksilolde 1 dakika bekletildi
3. Ksilol işlemi tamamlandıktan sonra 1 dakika %100 alkol içerisine dokular konuldu.
4. Dokular %80 alkol içerisinde 1 dakika bekletildi.
5. Dokular alkol içerisinde iken 30 damla Hematoksilen A ve 30 damla Hematoksilen B karıştırıldı
6. Alkol içerisinden çıkartılan preparatlar boyama kaplarının üzerine alındı
7. Hazırlanan Hematoksilen A ve Hematoksilen B karışımı preparatlar üzerine damlatıldı ve 10 dakika bekletildi
8. 20 dakika preparatların kuruması için beklendi
9. %1'lik Pikrik asit dokular üzerine damlatıldıktan sonra 10 dakika bekletildi
10. Ardından dokular hemen distile su ile 1 dakika boyunca yıkandı
11. Dokuların distile sudan çıkmasıyla fuksin damlatılarak 4 dakika bekletildi
12. Fosfomolibdik asit dokulara damlatılarak 10 dakika bekletildi
13. Fosfomolibdik asit'den hemen sonra dokular 1 dakika distile su ile yıkandı

14. Dokuların yıkanmasıyla dokulara Anilin mavisi damlatılıp 5 dakika bekletildi
15. Ardından dokular distile su ile 1 dakika boyunca yıkandı

Periyodik Asit – Schiff (PAS) Boyama prosedürü: BİO-OPTİCA 04-130808-MİLAN

1. Preperatlar 60 °C etüvde bekletildi
2. Etüvden çıkarılan preperatlar hemen sıcak ksilole alındı
3. Sıcak ksilolden hemen sonra dokular distile suda yıkandı
4. Preperatlardaki dokulara 10 damla Reaktif A bir damla damlatılıp 10 dk beklenildi
5. 10 dakika sonra preperatlar distile su ile yıkandı
6. Dokulara birer damla Reaktif B damlatılarak 20 dakika bekletildi
7. Ardından dokular distile su ile yıkandı
8. Dokulara ardından 10 damla Reaktif C damlatılıp 2 dakika bekletildi
9. Reaktif C ‘den sonra dokular durulandı
10. Ardından her dokuya 10 damla Reaktif D damlatıldı
11. Reaktif D’den hemen sonra dokulara Reaktif E damlatıldı ve 3 dakika bekletildi
12. Dokular distile su yardımı ile fazla boyadan arındırıldı
13. Lamlar ilk önce %80 alkolde 1 dakika bekletildi
14. Artından lamlar %90 alkolde 1 dakika bekletildi
15. Açık havada alkolün ucması beklenip, dokular ksilene alındı
16. Dokular entellan yardımı ile kapatıldı.

TUNEL boyama için parafin bloklardan 3µm’lik kesitler polizinli lamlara alındı.

Terminal-deoxynucleotidyl Transferase Mediated Nick end-labeling (TUNEL) Boyama prosedürü: MERCK-S7101-ALMANYA

1. Doku kesitleri bir gece 60 °C’lik etüvde bekletildi.
2. Etüvden çıkarılan doku kesitleri 2 dakika %100 alkolde bekletildi
3. Ardından doku kesitleri 2 dakika %80 alkolde bekletildi
4. %80 alkolden sonra preperatlar 3 kez PBS ile yıkandı
5. Dokuların üzerine 1 damla Proteinase K damlatılıp 15 dakika bekletildi

6. Ardından dokular 3 kez PBS ile yıkandı
7. Yıkanan dokuların üzerine H₂O₂ (Hydrogen peroxide) damlatılıp 5 dk bekletildi
8. 5'er dakika aralar ile toplamda 3 kez dokular PBS ile yıkandı
9. Yıkama işleminden sonra dokulara Equilibration Buffer damlatılıp 5 dakika bekletildi
10. Negative kontrol hariç tüm lamlara TdT enzimi damlatılıp 37 °C'lik etüvde 1 saat bekletildi.
11. 1 saatin sonunda dokulara stop wash buffer damlatılıp 10 dakika beklendi
12. 5'er dakika aralar ile toplamda 3 kez dokular PBS ile yıkandı
13. Dokulara Anti-digoxigenin Peroxiadase damlatılarak 30 dakika bekletildi.
14. 5'er dakika aralar ile toplamda 3 kez dokular PBS ile yıkandı
15. 490 DAB dilution ve 10 DAB ile hazırlanan solüsyon dokulara damlatılıp 4 dakika bekletildi
16. Dokular 2 dakika bekletilerek 3 kez distile su ile yıkandı
17. Bio- Optica Papanicolaou Ematossilina Harris ile dokular boyandı
18. 5'er dakika aralar ile toplamda 3 kez dokular PBS ile yıkandı
19. Lamlar ilk önce %80 alkolde 1 dakika bekletildi
20. Artından lamlar %90 alkolde 1 dakika bekletildi
21. Açık havada alkolün ucması beklenip, dokular ksilene alındı
22. Dokular entellan yardımı ile kapatıldı

4. BULGULAR

4.1 İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizler SPSS programı kullanılarak yapılmıştır. SPSS programında Mann Whithney U testi ve Kruskal Walliss kullanılarak elde edilen değerler karşılaştırılmıştır. Aşağıda Tablo 4'de grupların Mean $\pm$ SD ve p değerleri karşılaştırılmıştır. Tablo 4.1'de ise grupların median, minimum ve max değerleri karşılaştırılmıştır.

Mean $\pm$ SD	Deney Öncesi Vücut Ağırlıkları	Deney Sonrası Vücut Ağırlıkları	Sağ Testis Ağırlıkları	TUNEL (+) Hücre Sayıları
Cd	15 6.7 $\pm$ 19.7	230.3 $\pm$ 25.28	0.38 $\pm$ 0.33	15.16 $\pm$ 4.40
Cd+CO	162.5 $\pm$ 5.28	245.33 $\pm$ 28.9	0.43 $\pm$ 0.12	4.66 $\pm$ 3.77
Cd+PCA	213.0 $\pm$ 43.2	258.3 $\pm$ 9.58	0.68 $\pm$ 0.07	4.00 $\pm$ 1.67
CO	175.7 $\pm$ 23.9	234.16 $\pm$ 19.60	1.15 $\pm$ 0.09	0.33 $\pm$ 0.51
Kontrol	227.0 $\pm$ 20.0	281.5 $\pm$ 14.61	1.37 $\pm$ 0.10	0.00 $\pm$ 0.00
PCA	239.0 $\pm$ 33.4	307.8 $\pm$ 163.9	1.57 $\pm$ 0.17	0.33 $\pm$ 0.51
P<0.05	0.001	0.004	0.000	0.047

Tablo 4.1. Deneklerin deney öncesi ve sonrası ağırlıklarının, sağ testis ağırlıklarının ve TUNEL sonuçlarının mean , standart deviasyon ve p sonuçları

*Mann Whitney U Test’ine göre grupların birbirleri ile olan karşılaştırması sonucu istatistiksel anlamlılık belirtilmiştir (anlamlılık değeri p<0,05’tir);

Med(min-max)	Deney Öncesi Vücut Ağırlıkları	Deney Sonrası Vücut Ağırlıkları	Sağ Testis Ağırlıkları	TUNEL (+) Hücre Sayıları
Cd	149.0(136.0-182.0)	231.0(188.0-266.0)	0.38(0.39-1.20)	14.0 (11-23)
Cd+CO	162.0(155.0-182.0)	255.0(202.0-272.0)	0.41(0.30-0.66)	3.5 (2-12)
Cd+PCA	213.0(166.0-260.0)	260.0(240.0-266.0)	0.57(0.32-0.50)	4.0 (1-6)
CO	177.0(138.0-212.0)	237.0(200.0-360.0)	1.17(1.0-1.26)	0.0 (0-1)
Kontrol	219.0(212.0-266.0)	278.0(260.0-300.0)	1.37(1.23-1.50)	0.0 (0-0)
PCA	245.0(180.0-280.0)	346.0(0-464.0)	1.52(1.35-1.77)	0.0 (0-1)

Tablo 4.2. Deneklerin deney öncesi ve sonrası ağırlıklarının, sağ testis ağırlıklarının ve TUNEL sonuçlarının median, minmum ve maximum sonuçları

Deney öncesi ve sonrasında deneklerin vücut ağırlıkları karşılaştırıldığında tüm gruplarda istatistiksel olarak anlamlı bir kilo artışı olduğu tespit edilmiştir. Deney sonrası

gruplara ayrılmış olan hayvanların ağırlıklarının standart sapmalarına bakıldığında en fazla sapmanın PCA'lı grupta 307.8 ± 16.39 olduğu gözlemlendi. Bu durum PCA'lı grubu oluşturan hayvanların vücut ağırlıklarının deney sonrasında birbirine yakın olmadığını göstermektedir. En az standart sapmaya sahip olan grup ise Kadmiyumlu grupta 230.3 ± 25.28 olarak görülmüştür. Bu durumun ise Kadmiyum grubundaki hayvanların deney sonrasında vücut ağırlıklarının birbirine yakın olduğunu göstermektedir

Deney sonrası gruplara ayrılmış olan hayvanların testis ağırlıklarının standart sapmalarına bakıldığında en fazla sapmanın Kadmiyumlu grupta 0.38 ± 0.33 olduğu gözlemlendi. Bu durum Kadmiyumlu grubu oluşturan hayvanların testis ağırlıklarının deney sonrasında birbirine yakın olmadığını göstermektedir. En az standart sapmaya sahip olan grup ise Kadmiyum ile PCA'lı grupta 0.68 ± 0.07 olarak görülmüştür. Bu durumun ise Kadmiyum ile PCA grubundaki hayvanların deney sonrasında testis ağırlıklarının birbirine yakın olduğunu göstermektedir.

Gruplara ayrılmış olan hayvanların TUNEL sonuçlarının standart sapmalarına bakıldığında en fazla sapmanın Kadmiyumlu grupta 15.16 ± 4.40 olduğu gözlemlendi. En az standart sapmaya sahip olan grup ise kontrol grubunun 0.00 ± 0.00 olarak görülmüştür.

	Deney Öncesi Ağırlıkların p Değerleri	Deney Sonrası Ağırlıkların p Değerleri	Deney Sonrası Testis Ağırlıklarının p Değerleri	TUNEL (+) Hücre Sayısı p değeri
Cd ile Cd+CO	0.335	0.337	0.150	0.008
Cd ile Cd+PCA	0.045	0.043	0.037	0.004
Cd ile CO	0.260	0.519	0.016	0.003
Cd ile Kontrol	0.004	0.006	0.004	0.002
Cd ile PCA	0.008	0.055	0.006	0.003
Cd+CO ile Cd+PCA	0.008	0.747	0.423	0.744
Cd+CO ile CO	0.078	0.296	0.004	0.003

Cd+CO ile Kontrol	0.004	0.013	0.004	0.002
Cd+CO ile PCA	0.004	0.055	0.006	0.003
Kontrol ile PCA	0.229	0.173	0.044	0.138
CO ile PCA	0.013	0.054	0.006	1.000
CO ile Kontrol	0.005	0.005	0.008	0.138
Cd+PCA ile PCA	0.335	0.054	0.006	0.005
Cd+PCA ile CO	0.229	0.023	0.004	0.005
Cd+PCA ile Kontrol	0.631	0.015	0.004	0.002

Tablo 4.3. Gruplara ait deney öncesi ve sonrası ağırlıklar ile testis ağırlıklarının p değerlerinin kendi aralarında karşılaştırılması

*Mann Whitney U Test'ine göre grupların birbirleri ile olan karşılaştırması sonucu istatistiksel anlamlılık belirtilmiştir (anlamlılık değeri $p < 0,05$ 'tir)

Deney öncesi, deney sonrası vücut ağırlıkları, deney sonrasındaki testis ağırlıkları ve TUNEL sonuçlarının p değerleri değerlendirildiğinde elde edilen sonuçlarda gruplar arasında p değerlerinin anlamlı olduğu gözlenmiştir (Tablo 4.2).

Deney öncesi vücut ağırlıklarının medianlarına bakıldığında birbirinden p değerlerinin farklı olduğu; en yüksek median değerinin 213.0 ile Kadmiyumlu gruba, en düşük değer ise 149.0 ile Kadmiyum ile PCA grubuna ait olduğu görülmüştür. Cd + PCA'lı gruptaki deneklerin kilo artışı Cd ve Cd+CO'lu gruba göre daha fazla bulunmuştur. Ancak her iki gruptaki artış, Cd'lu gruba göre daha fazla bulundu.

Testislerin p değerlerinin ise < 0.05 'den küçük olduğu en yüksek median değerinin 1.57 ile sadece PCA verilen gruba ait olduğu en düşük değer ise 0.37 ile Kadmiyum grubuna ait olduğu görülmüştür. Kontrol, sadece PCA ve sadece CO verilen gruplar ile karşılaştırıldığında, Cd verilen grupta testis ağırlıklarının anlamlı olarak azaldığı, CO ve PCA ile tedavi edilen gruplarda artış olduğu tespit edildi, ancak bu artış kontrol, PCA ve CO grup değerlerine ulaşmamıştı.

Kadmiyum ve CO grupları karşılaştırıldığında deney sonrası ve deney öncesi vücut ağırlığı ile deney sonrasındaki testis ağırlığının p değerlerinin 0.05'den büyük çıkmasından dolayı gruplar arasında belirtilen ağırlıklarda medianların arasında farklı değerlerde olmadığı görülmüştür. Buna bağlı olarak medianları karşılaştırıldığında deney sonrası vücut ağırlığı kadmiyum için 149.0 , kadmiyum ve CO için 255.0 olduğu bulunmuştur. Kadmiyumlu grubun deney öncesi median 213.0 iken Kadmiyum ve CO median 162.0 bulunmuştur.

Karşılaştırılan kadmiyum ve kadmiyum+ PCA grubunun deney öncesi ve deney sonrası vücut ağırlığı ile deney sonrasındaki testis ağırlığının p değerlerinin 0.05'den küçük olması 2 grup arasında belirtilen özelliklerdeki medianlar arasında farklı değerlerde olduğunu göstermektedir. Kadmiyumlu grubun deney öncesindeki vücut ağırlığının medianı 149.0 iken Kadmiyum+PCA grubunun medianı 213.0'dır. Deney sonrası vücut ağırlığı kadmiyumlu grupta 231.0 iken Kadmiyum+PCA grubunda 260.0'dır. Testis ağırlıklarının medianına bakıldığında ise kadmiyumlu grubun medianının 0.58, Kadmiyum+PCA grubunun ise 0.37 olduğu hesaplanmıştır.

Karşılaştırılan Cd ile CO grubun deney öncesi ve sonradı vücut ağırlıklarının 0.05'den büyük olması 2 grup arasında belirtilen özelliklerde farklı değerlerde olmadığını göstermektedir. Kadmiyumlu grubun deney öncesindeki vücut ağırlığının medianı 149.0 iken CO grubunun medianı 177.0'dır.. Kadmiyumlu grubun medianı 231.0 iken CO grubun median 237.5'dır. Deney sonrası testis ağırlıklarının p değerlerinin 0.05'den küçük olması bu iki gup arasındaki mediaların arasındafarklı değerleri, olduğunu belirtmektedir Testis ağırlıklarının medianına bakıldığında ise Kadmiyumlu grubun medianının 0.58, CO grubunun medianı 1.17 olduğu hesaplanmıştır.

Karşılaştırılan Cd ile Kontrol grubunun deney öncesi vücut ağırlıklarının ,deney sonrası vücut ağırlığı ve deney sonrası testis ağırlıklarının p değerlerinin 0.05'den küçük olması bu iki gup arasındaki mediaların arasındafarklı değerleri, olduğunu belirtmektedir. Kadmiyumlu grubun medianı 231.0 iken kontrol grubunun median 219.0'dır. Testis ağırlıklarının medianına bakıldığında ise Kadmiyumlu grubun medianının 0.58, Kotrol grubunun medianı 1.37 olduğu hesaplanmıştır.

Karşılaştırılan Cd ile PCA grubun deney sonrası vücut ağırlıklarının 0.05'den büyük olması 2 grup arasında belirtilen özelliklerde farklı değerlerde olmadığını göstermektedir.. Deney sonrası vücut ağırlığının Kadmiyumlu gruptaki medianı 231.0 iken PCA'lı grupta 346.0 'dır. Deney sonrası testis ağırlıklarının p değerlerinin 0.05'den küçük olması bu iki grup arasındaki mediyaların arasındafarklı değerleri, olduğunu belirtmektedir. Kadmiyumlu grubun deney öncesindeki vücut ağırlığının medianı 149.0 iken PCA grubunun medianı 245.0'dır

Karşılaştırılan Kadmiyum+ CO ile Cd+PCA grubun deney sonrası testis ağırlıkları ve sonrası vücut ağırlıkları ile deney sonrası testis ağırlığının p değerlerinin 0.05'den büyük olması 2 grup arasında belirtilen özelliklerde farklı değerlerde olmadığını göstermektedir Deney sonrası vücut ağırlığının Kadmiyum+CO'lu gruptaki medianı 255.0 iken Kadmiyum+PCA'lı grupta 260.0 'dır . Kadmiyum+ CO grubunun deney öncesindeki vücut ağırlığının p değerlerinin 0.005 den düşük olması 2 grup arasında farklı ark.,olduğunu göstermektedir. Kadmiyum+ CO'nun medianı 162.0 iken Cd+ PCA grubunun medianı 213.0'dır. Kadmiyum+CO'lu grubun deney sonrası testis ağırlığının medianının 0.41, Kadmiyum+PCA grubunun medianı 0.37 olduğu hesaplanmıştır.

Karşılaştırılan Cd+CO ile CO grubun deney öncesi vücut ağırlıkları ile deney sonrası testis ağırlığının p değerlerinin 0.05'den küçük olması 2 grup arasında belirtilen özelliklerde farklı değerlerde olduğunu göstermektedir. Kadmiyum+ CO grubunun deney öncesindeki vücut ağırlığının medianı 162.0 iken CO grubunun medianı 177.0'dır. Deney sonrası testis ağırlığının Kadmiyum+CO'lu gruptaki medianının 0.41, CO grubunun medianı 1.17 olduğu hesaplanmıştır. Deney sonrası vücut ağırlığının p değerinin <0.05'den büyük olması ise 2 grubun medianlarının arasında farklı değerleri olmadığını göstermektedir. Buna göre, Kadmiyum+ CO'nun median 255.0 iken C. Olitoriosun medianı 237.5 olarak hesaplanmıştır.

Karşılaştırılan Kadmiyum+ CO ile Kontrol grubun deney öncesi ve deney sonrası vücut ağırlığı ile deney sonrasındaki testis ağırlığının p değerlerinin 0.05'den küçük olması 2 grup arasında belirtilen özelliklerdeki medianlar arasında farklı değerlerde olduğunu göstermektedir. Kadmiyumlu+CO grubun deney sonrasındaki vücut ağırlığının medianı

255.0 iken Kontrol grubunun medianı 278.5'dir. Testis ağırlıklarının medianına bakıldığında ise Kadmiyum+CO grubun medianının 0.41, Kontrol grubunun ise 1.37 olduğu hesaplanmıştır.

Karşılaştırılan Kadmiyum+ CO ile PCA grubun deney öncesi vücut ağırlıkları ile deney sonrası testis ağırlığının p değerlerinin 0.05'den küçük olması 2 grup arasında belirtilen özelliklerde farklı değerlerde olduğunu göstermektedir. Kadmiyum+ CO grubunun deney öncesindeki vücut ağırlığının medianı 162.0 iken PCA grubunun medianı 245.0'dır. Deney sonrası testis ağırlığının Kadmiyum+CO'lu gruptaki medianının 0.41, PCA grubunun medianı 1.52 olduğu hesaplanmıştır. Deney sonrası vücut ağırlığının p değerinin <0.05'den büyük olması ise 2 grubun medianlarının arasındafarklı değerleri, olmadığını göstermektedir. Buna göre, Kadmiyum+ CO'nun median 255.0 iken PCA medianı 346.0 olarak hesaplanmıştır.

Karşılaştırılan Kadmiyum+ PCA ile CO grubun deney öncesi vücut ağırlıklarının 0.05'den büyük olması 2 grup arasında belirtilen özelliklerde farklı değerlerde olmadığını göstermektedir. Kadmiyum+PCA grubun deney öncesindeki vücut ağırlığının medianı 149.0 iken CO grubunun medianı 177.0'dır. Deney sonrası testis ağırlıkları ve deney sonrası vücut ağırlıklarının p değerlerinin 0.05'den küçük olması bu iki grup arasındaki medianların arasındafarklı değerleri olduğunu belirtmektedir. Kadmiyum+PCA grubunun medianının 0.37 , CO grubunun medianı 1.17 olduğu hesaplanmıştır.

Karşılaştırılan Kadmiyum+ PCA ile Kontrol grubun deney öncesi vücut ağırlığının 0.05den büyük olması gruplar arasında belirtilen özellikdefarklı değerleri, olmadığını göstermektedir. Fakat deney sonrası vücut ağırlığı ile deney sonrasındaki testis ağırlığının p değerlerinin 0.05'den küçük olması 2 grup arasında belirtilen özelliklerdeki medianlar arasında farklı değerlerde olduğunu göstermektedir. Kadmiyumlu+PCA grubun deney sonrasındaki vücut ağırlığının medianı 231.0 iken Kontrol grubunun medianı 278.5'dir. Testis ağırlıklarının medianına bakıldığında ise Kadmiyum+PCA grubun medianının 0.37, Kontrol grubunun ise 1.37 olduğu hesaplanmıştır.

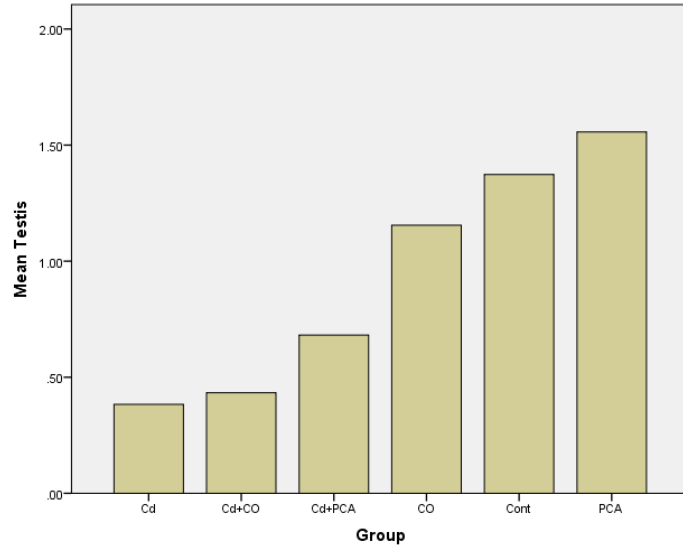
Karşılaştırılan Kadmiyum+ PCA ile PCA grubunun deney sonrası testis ağırlıklarının p değerlerinin 0.05'den küçük olması 2 grup arasında belirtilen özelliklerde farklı

değerlerde olduğunu göstermektedir. Deney sonrası testis ağırlığının Kadmiyum+PCA'lu gruptaki medianının 0.37 , PCA grubunun medianı 1.52 olduğu hesaplanmıştır. Deney sonrası vücut ağırlığı ve deney öncesindeki vücut ağırlıklarının p değerinin <0.05 'den büyük olması ise 2 grubun medianlarının arasında farklı değerleri, olmadığını göstermektedir. Buna göre, Kadmiyum+ PCA'nın median 231.0 iken PCA medianı 346.0 olarak hesaplanmıştır

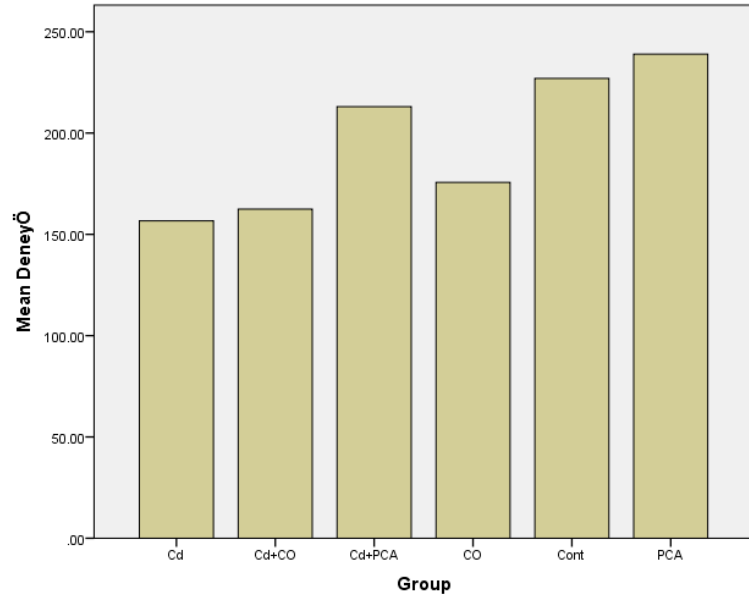
Karşılaştırılan CO ile Kontrol grubun deney öncesi ve deney sonrası vücut ağırlığı ile deney sonrasındaki testis ağırlığının p değerlerinin 0.05'den küçük olması 2 grup arasında belirtilen özelliklerdeki medianlar arasında farklı değerlerde olduğunu göstermektedir. CO grubun deney sonrasındaki vücut ağırlığının medianı 237.5 iken Kontrol grubunun medianı 278.5'dir. Testis ağırlıklarının medianına bakıldığında ise CO grubun medianının 1.17 , Kontrol grubunun ise 1.37 olduğu hesaplanmıştır.

Karşılaştırılan CO ile PCA grubun deney öncesi vücut ağırlıkları ile deney sonrası testis ağırlığının p değerlerinin 0.05'den küçük olması 2 grup arasında belirtilen özelliklerde farklı değerlerde olduğunu göstermektedir. CO grubunun deney öncesindeki vücut ağırlığının medianı 177.0 iken PCA grubunun medianı 245.0'dır. Deney sonrası testis ağırlığının C. Olitorius'lu gruptaki medianının 1.17 , PCA grubunun medianı 1.52 olduğu hesaplanmıştır. Deney sonrası vücut ağırlığının p değerinin <0.05 'den büyük olması ise 2 grubun medianlarının arasında farklı değerleri, olmadığını göstermektedir. Buna göre, CO'nun medianı 237.5 iken PCA medianı 346.0 olarak hesaplanmıştır.

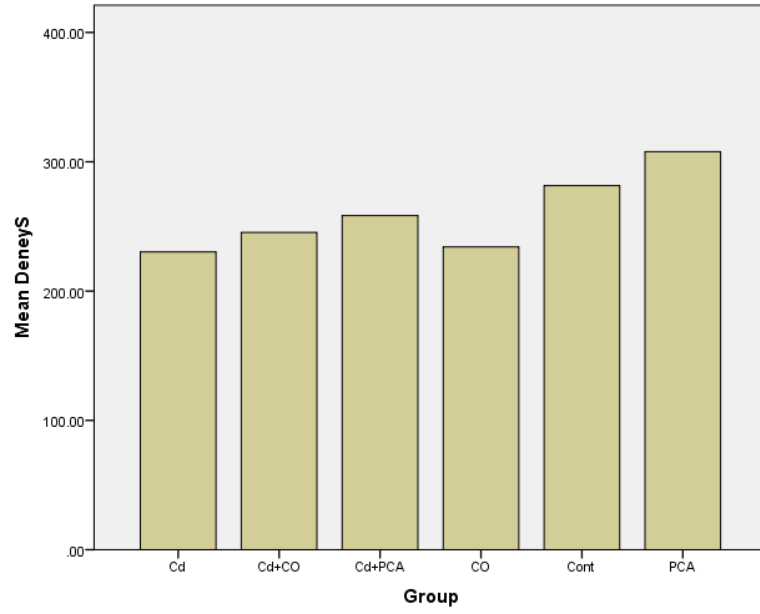
Karşılaştırılan Kontrol ile PCA grubun deney öncesi ve sonrası vücut ağırlıklarının 0.05'den büyük olması 2 grup arasında belirtilen özelliklerde farklı değerlerde olmadığını göstermektedir. Kontrol grubun deney öncesindeki vücut ağırlığının medianı 219.0 iken PCA grubunun medianı 245.0'dır. Deney sonrası vücut ağırlığının Kontrol gruptaki medianı 278.0 iken Kontrol grubunun ise 346.0 'dır. Deney sonrası testis ağırlıklarının p değerlerinin 0.05'den küçük olması bu iki grup arasındaki medianların arasında farklı değerleri, olduğunu belirtmektedir. Kontrol grubunun medianının 1.37 , PCA grubunun medianı 1.52 olduğu hesaplanmıştır.



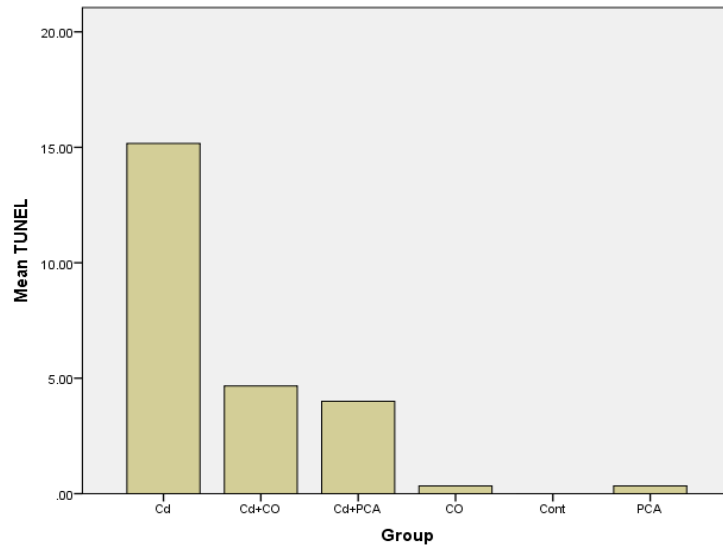
Şekil 4.1. Grupların testis ağırlıklarının ortalama değeri.



Şekil 4.2. Grupların Deney öncesindeki vücut ağırlıklarının ortalama değeri.



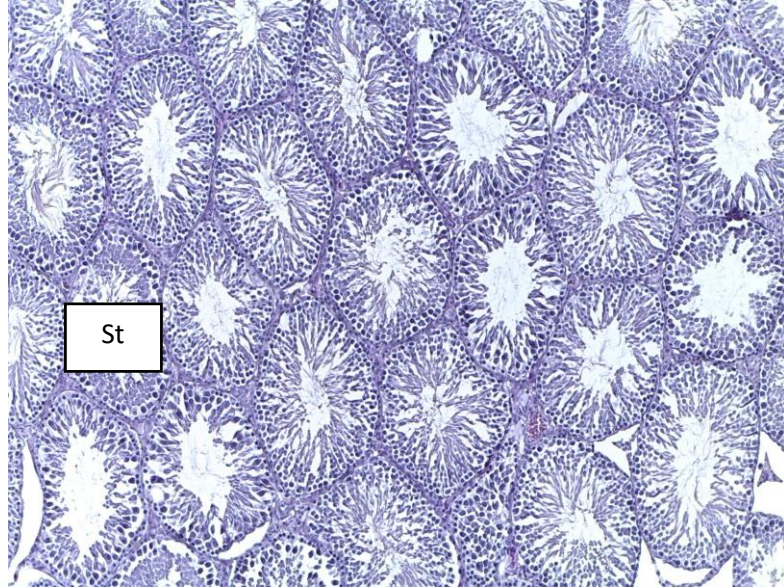
Şekil 4.3. Grupların Deney sonrasındaki vücut ağırlıklarının ortalama değerleri.



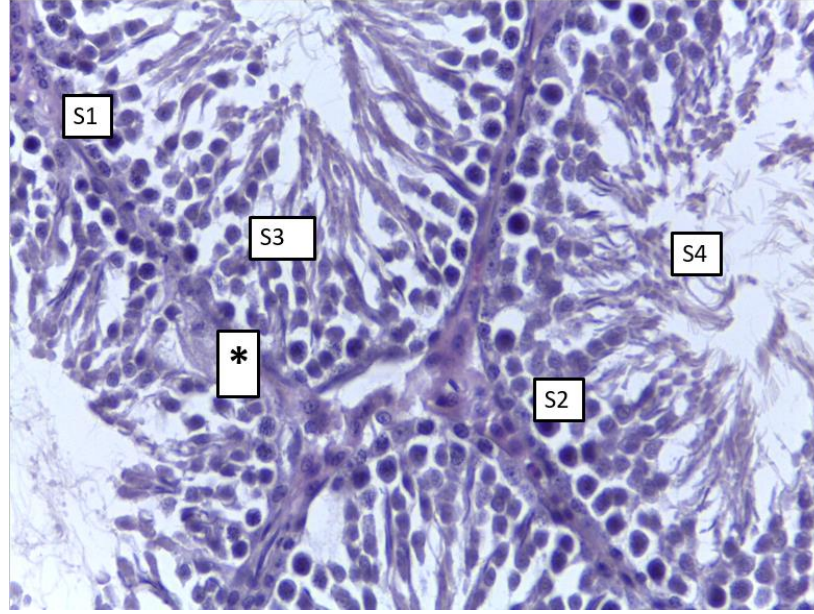
Şekil 4.4. Gruplara ait TUNEL sonuçlar

4.3 Işıık Mikroskopik Değerlendirme

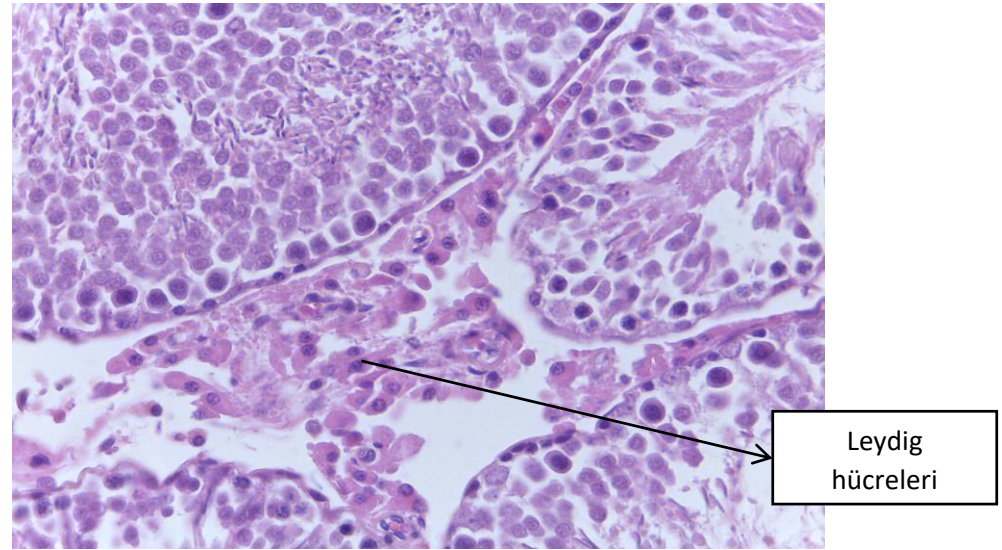
Dokulardaki ışıık mikroskopik değerlendirme x10 ve x40'objektif büyütmesi ile yapılmıştır. Tüm gruplara ait kesitlerde spermatogenetik hücreler, spermiyumlar, Leyding hücreleri, Sertoli hücreleri ve ara bağ doku değerlendirilmiştir.



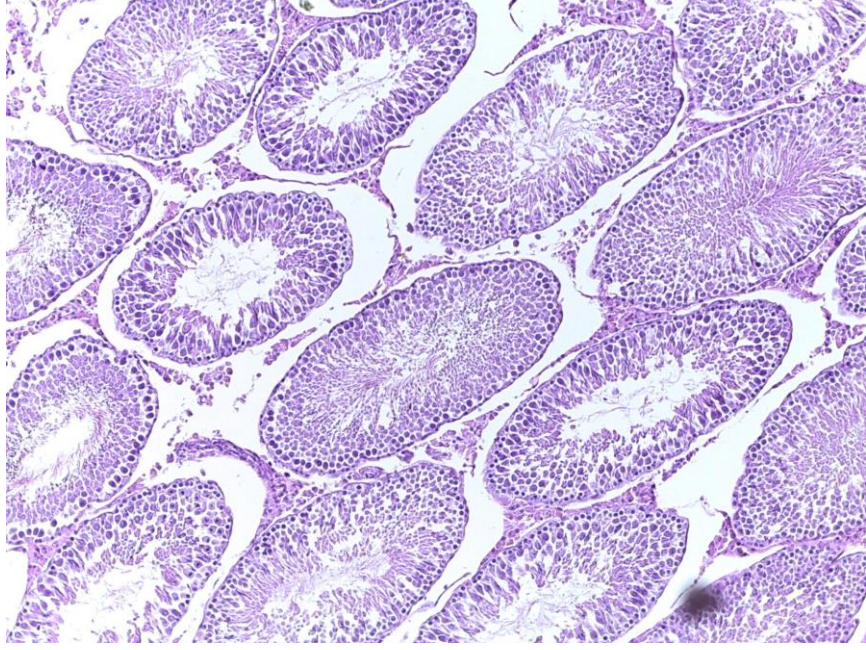
şekil 4.3.1. Kontrol testis dokusu. Seminifer tübüllerin (St) yapısı normal görülmektedir.
HE x10.



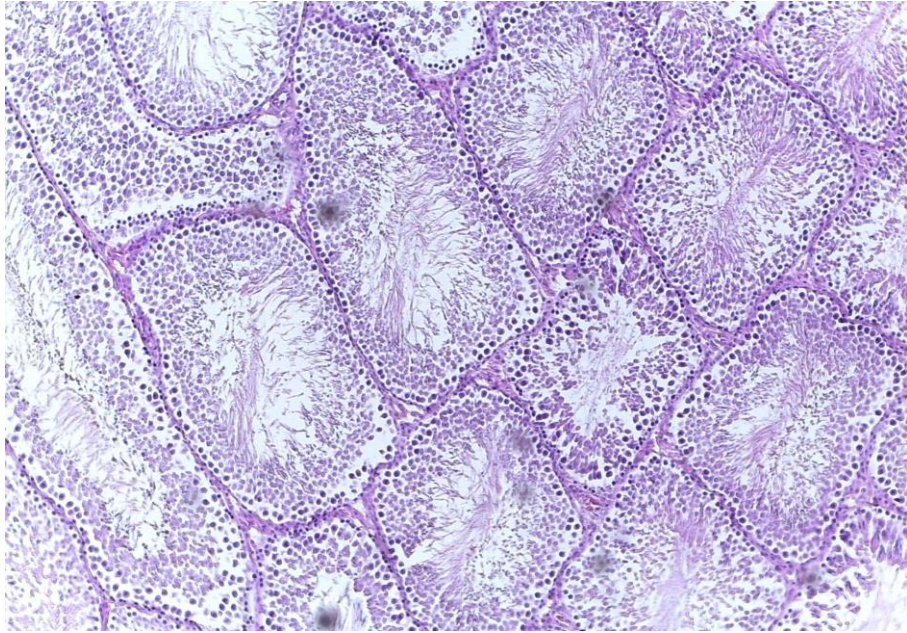
Şekil 4.3.2 . Kontrol testis dokusu. Spermatogoniumlar (S1) primer spermatositler (S2), erken spermatitler (S3), spermiyumlar (S4), Sertoli hücresi (*). HE x40.



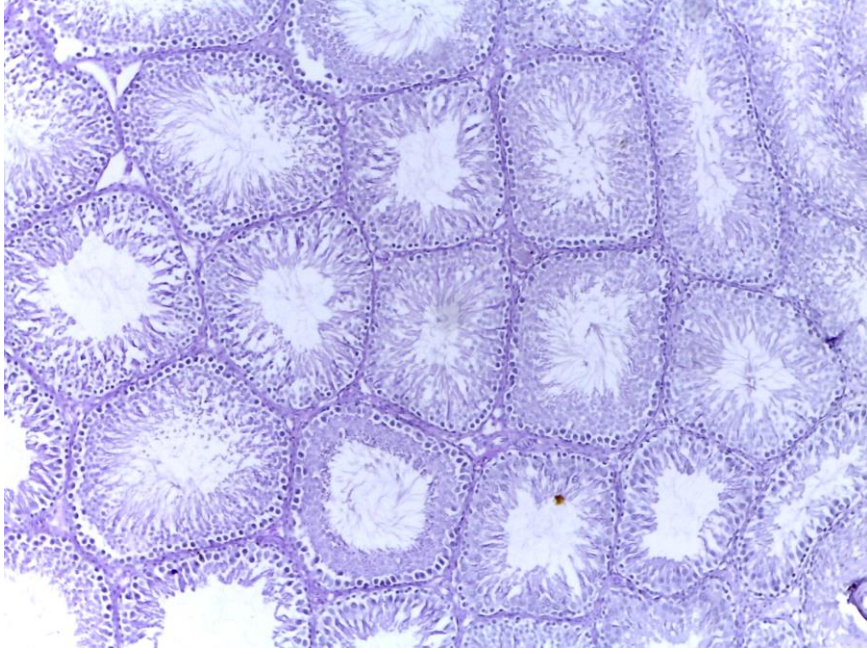
Şekil 4.3.3. Kontrol grubunda İntertisyel dokuda çok sayıda Leydig hücreleri (ok) görülmektedir. HE x40.



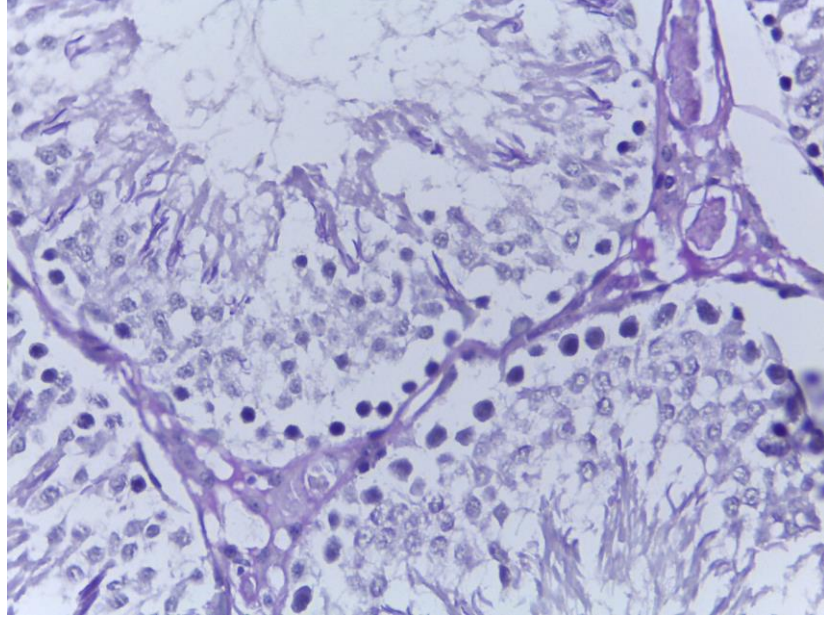
Şekil 4.3.4. Sadece PCA verilen grubun testis dokusu kontrol grubuna benzemektedir.
HE x10.



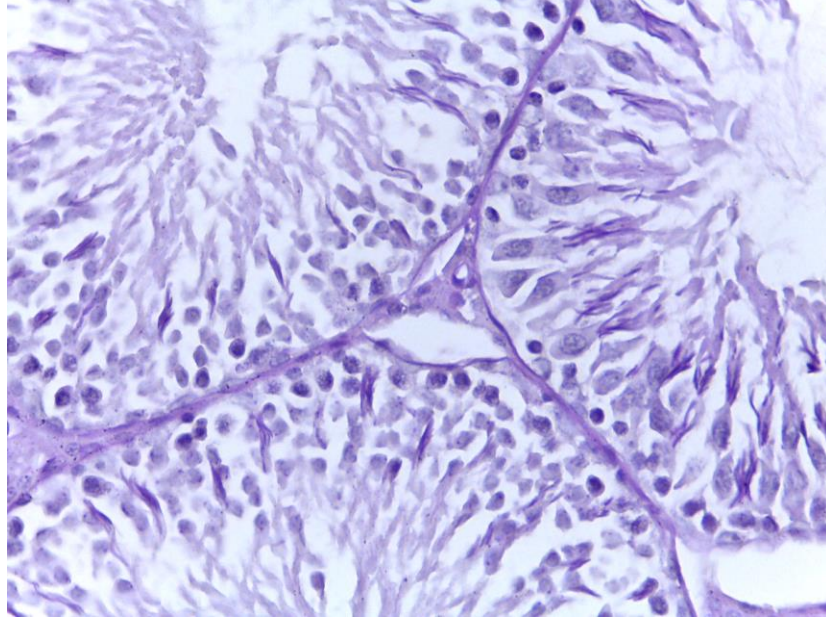
Şekil 4.3.5. Sadece CO verilen grupta testis dokusu kontrol grubuna benzemektedir.
HEx10.



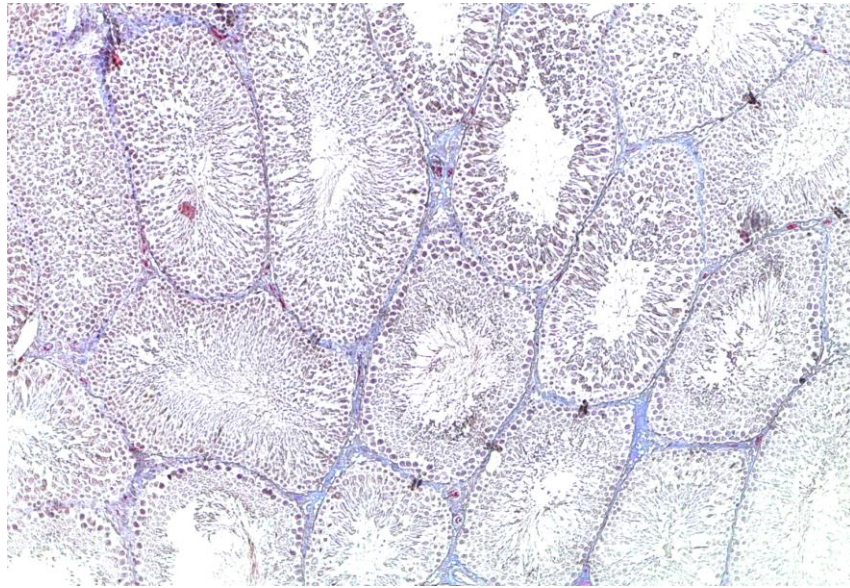
Şekil 4.3.6. Kontrol testis dokusunda seminifer tübül bazal membranları görülmektedir. PAS x10.



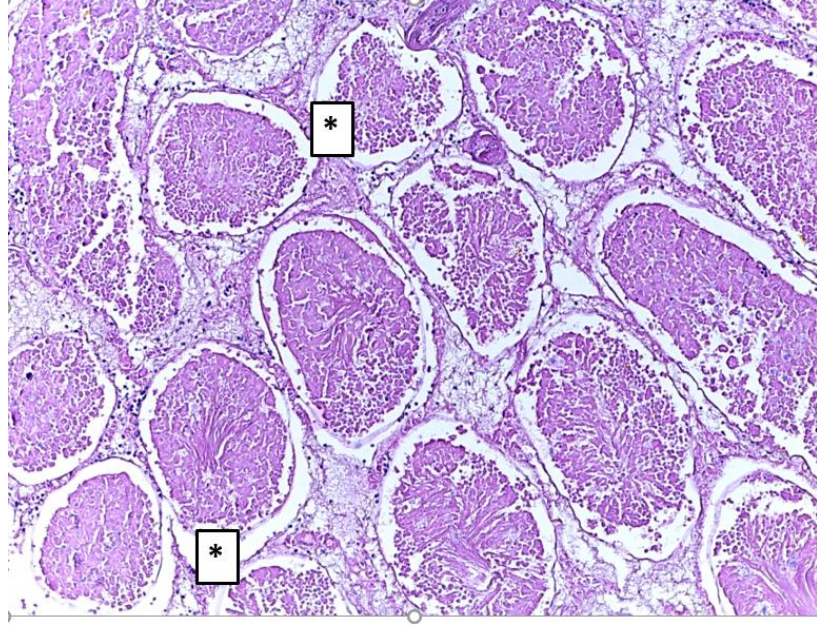
Şekil 4.3.7. Sadece PCA verilen grupta seminifer tübüllerin bazal membranları görülmektedir. PAS x40.



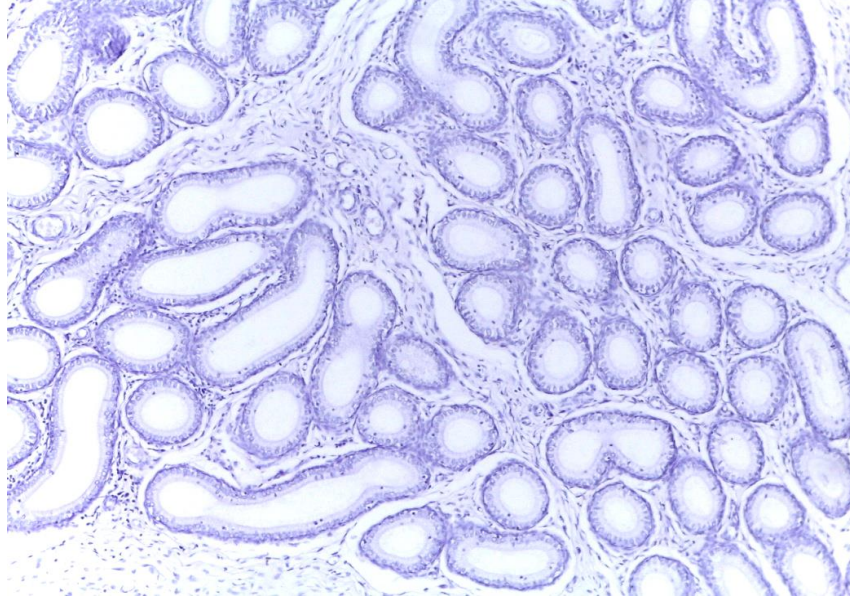
Şekil 4.3.8. Sadece CO verilen grupta seminifer tübül bazal membran yapısı görülmektedir.PASx40.



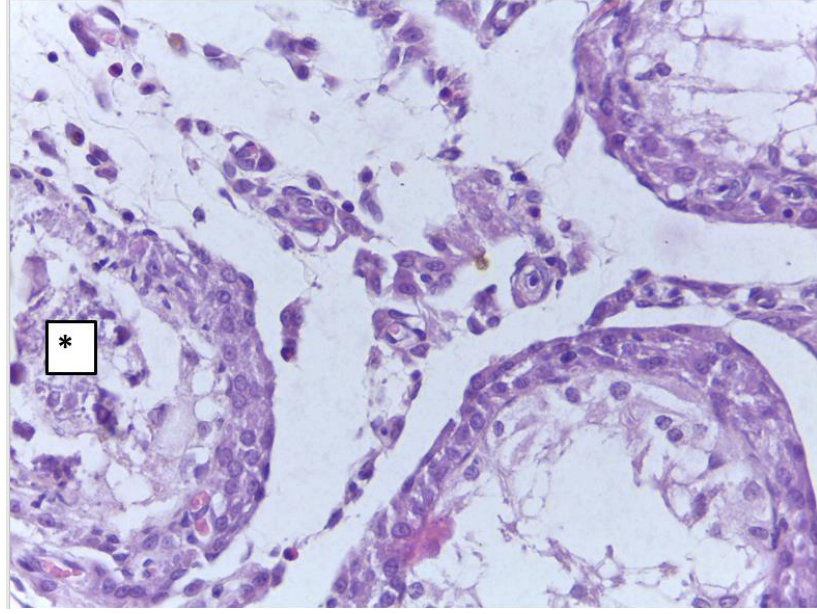
Şekil 4.3.9. Kontrol grubunda seminifer tübüller arasında bağ dokusu artışı olmadığı görülmektedir. Masson Trikrom boyaması x10.



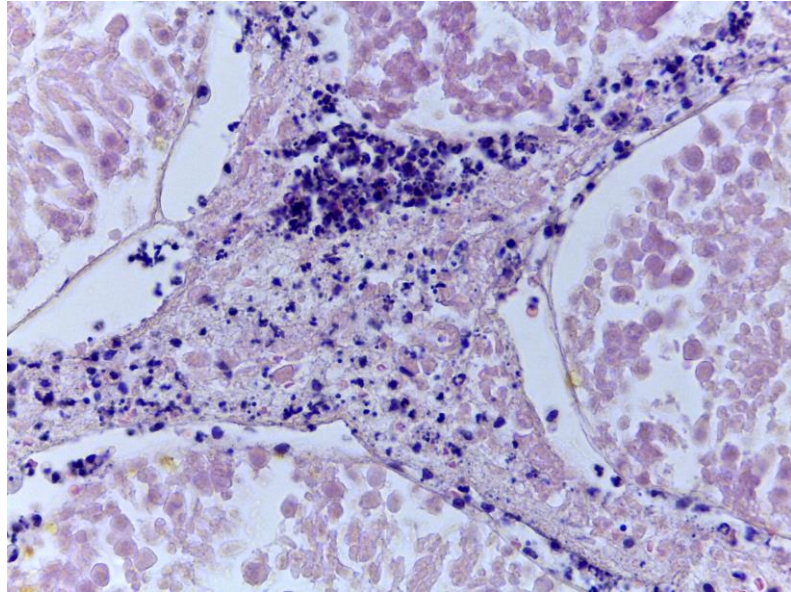
Şekil 4.3.10. Cd uygulanan grupta testis seminifer tübüllerinde ileri derecede dejenerasyon, intertisyal dokuda inflamatuvar hücre ve bağ doku artışı, ödem (*), görülmektedir. HEx10.



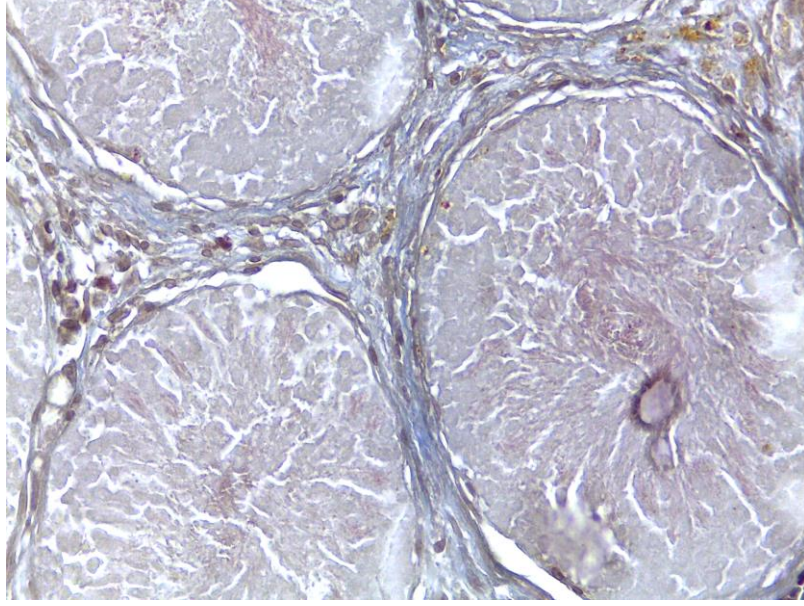
Şekil 4.3.11. Cadmiyum toksisitesine bağlı olarak epididimis bezinde sperm toplulukları görülmemektedir. HEx10.



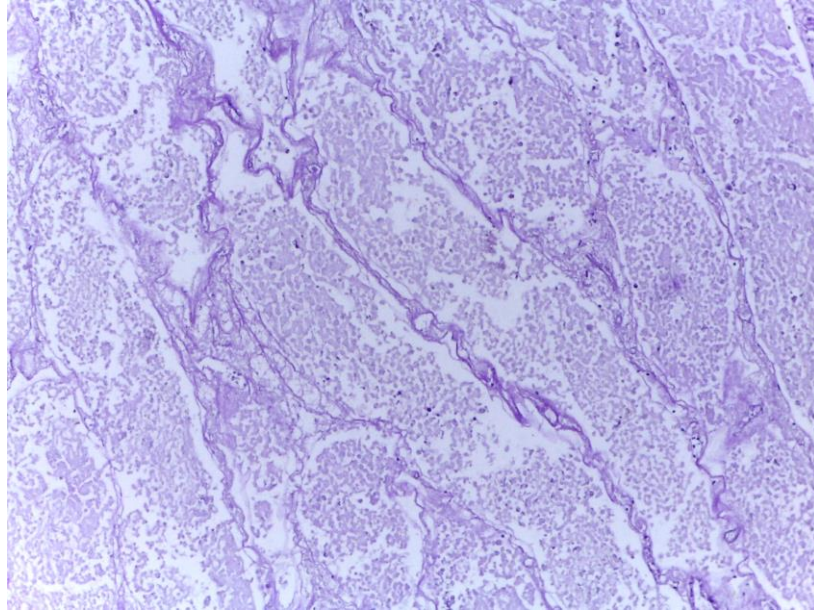
Şekil 4.3.12. Cd verilen grupta spermatogenetik hücrelerin sayıca çok azaldığı, lümende hücre artıklarının (*) olduğu görülmektedir. HE x40.



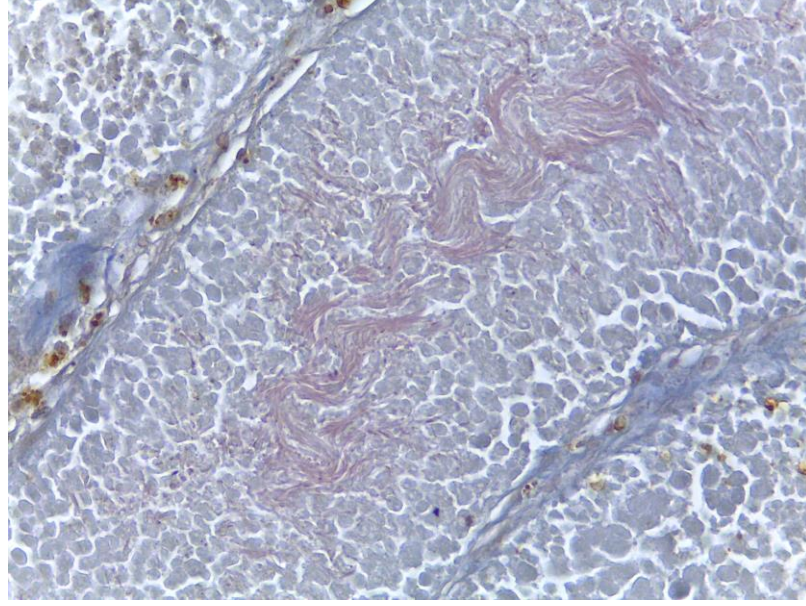
Şekil 4.3.13. Cd verilen grupta intertisyal dokuda özellikle nötrofil granüositler olmak üzere artmış inflamatuvar hücreler görülmekte. HEx40.



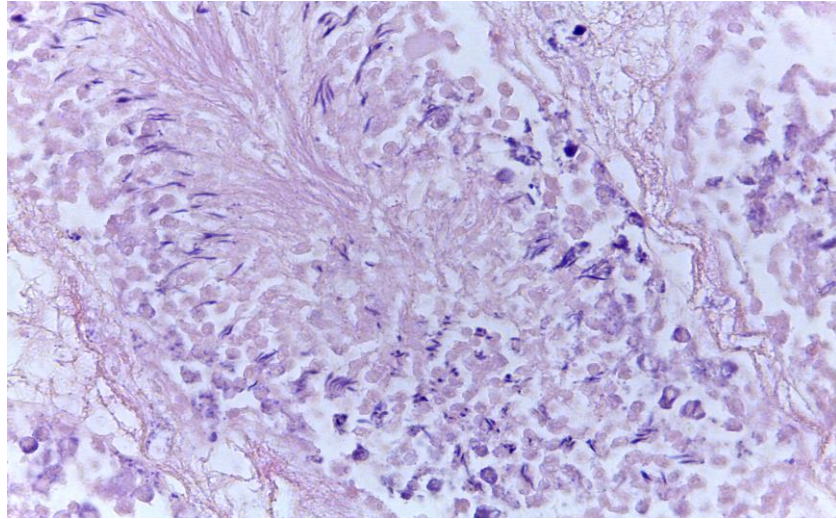
Şekil 4.3.14. Cd verilen grupta intertisyel alanda artmış bağ dokusu görülmektedir. Masson Trikrom x 40.



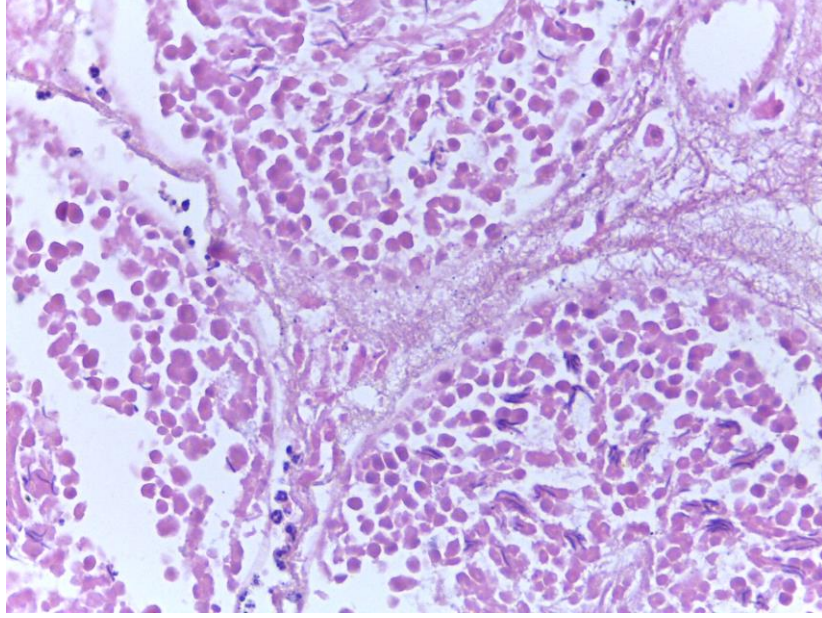
Şekil 4.3.15. Cd verilen grupta seminifer tübülleri bozulmasına bağlı bazal membran yapılarının da bozulduğu, girintili çıkıntılı olduğu görülmektedir. PAS x10.



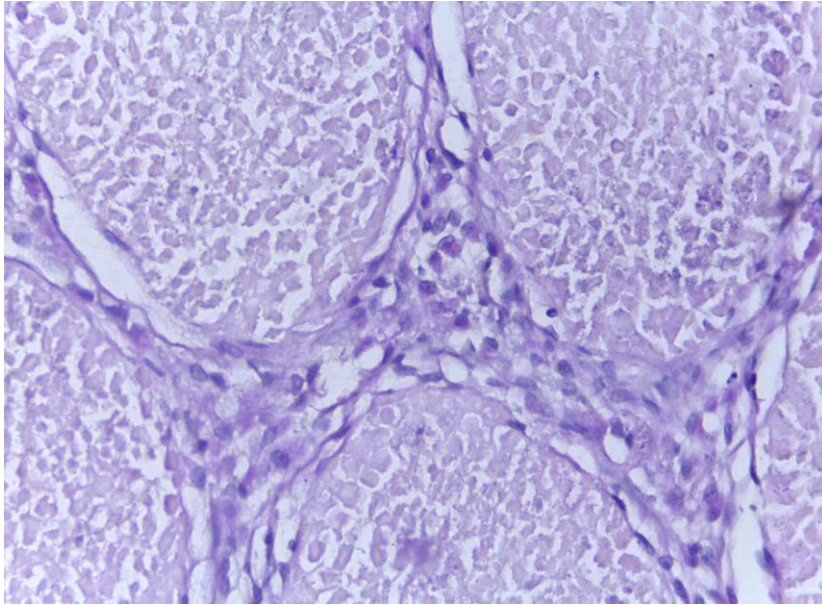
Şekil 4.3.16. Cd + PCA verilen grupta intertisyel alanda ödem ve inflamatuvar hücreler, Cd verilen gruba göre azalmış olarak görülmektedir. Masson Trikrom x 40.



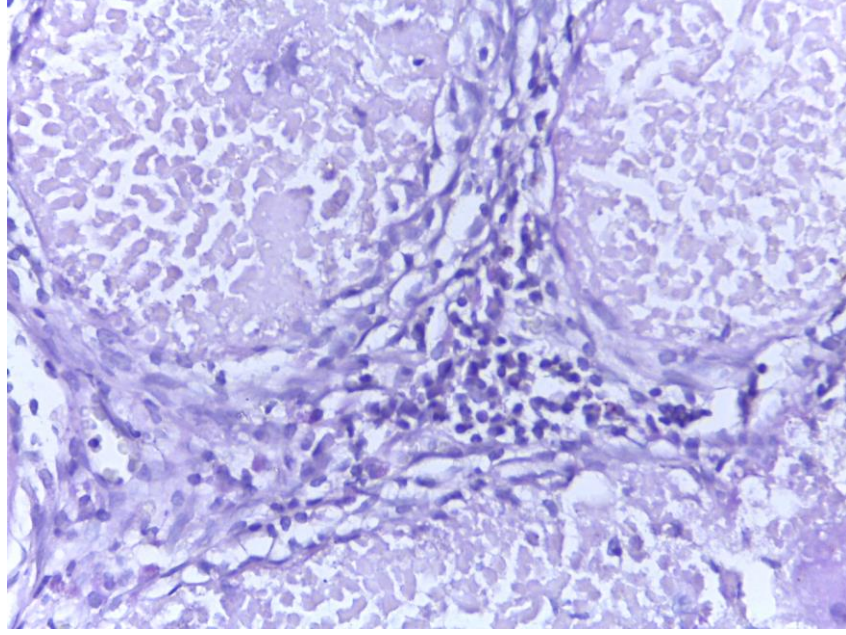
Şekil 4.3.17. Cd + PCA verilen gruptaki bazı seminifer tübüllerde spermiyumlar belirgin olarak seçilmektedir. HE x40.



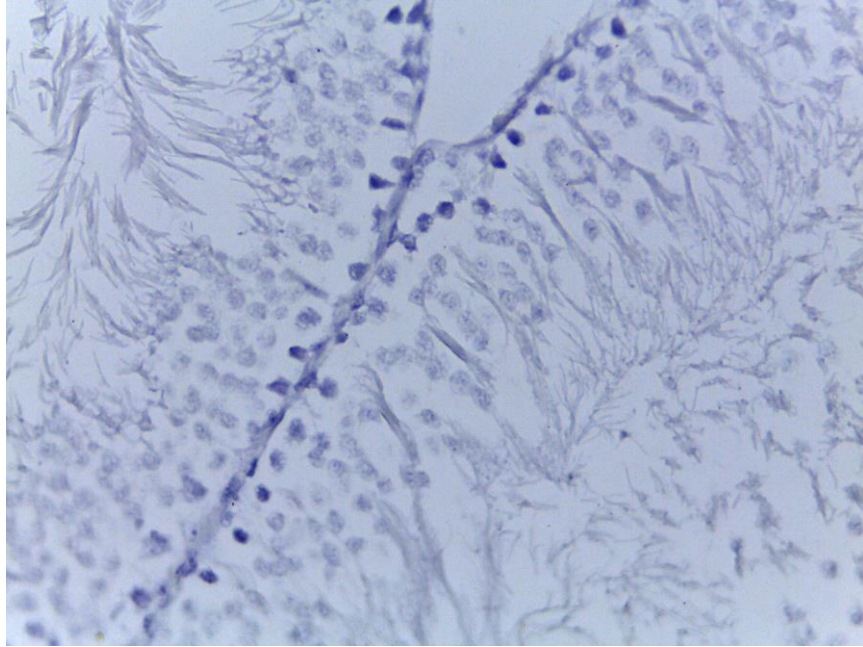
Şekil 4.3.18. Cd + CO verilen grupta, PCA verilen gruba benzer olarak inflamatuvar hücrelerin azaldığı, seminifer tübüllerde spermiyumlar görülmektedir. HE x40.



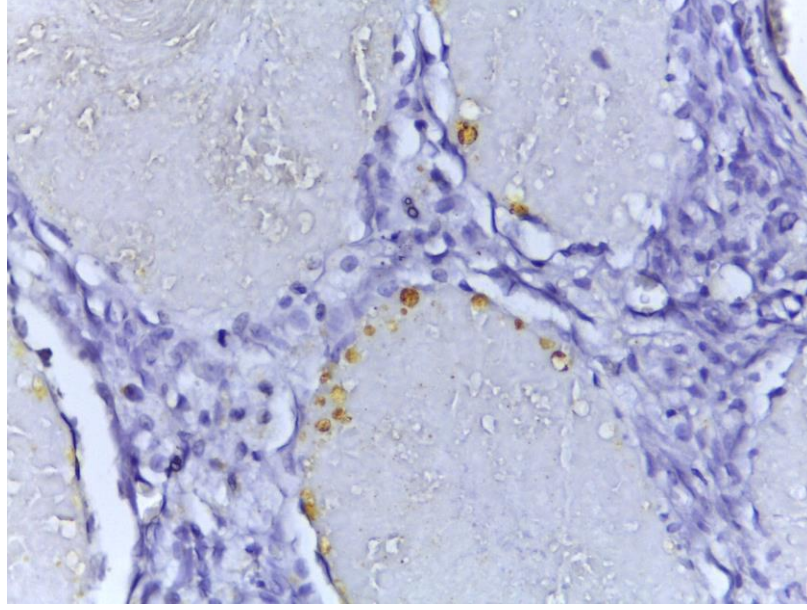
Şekil 4.3.19. Cd + PCA verilen grupta seminifer tübül bazal membranları görülmektedir. PAS x40.



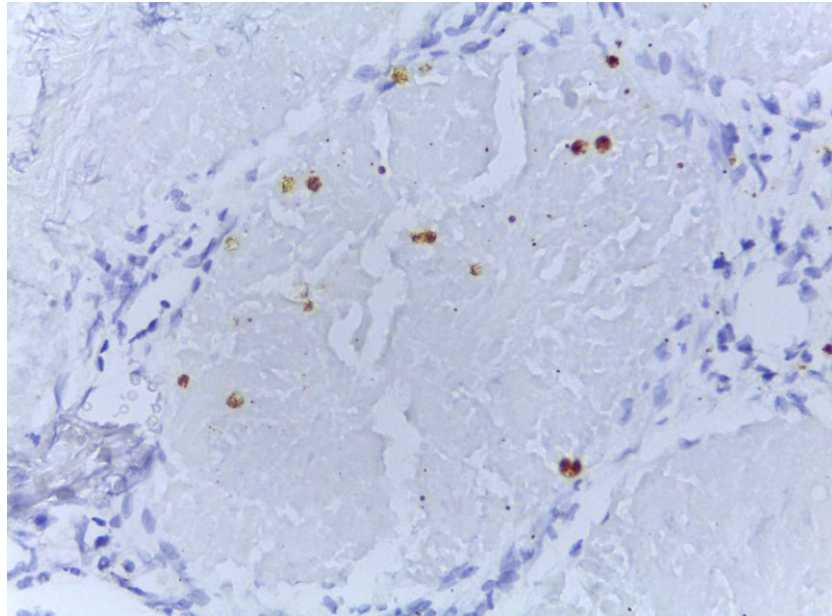
Şekil 4.3.20. Cd + CO verilen grupta seminifer tübül bazal membranları görülmektedir. PAS x40.



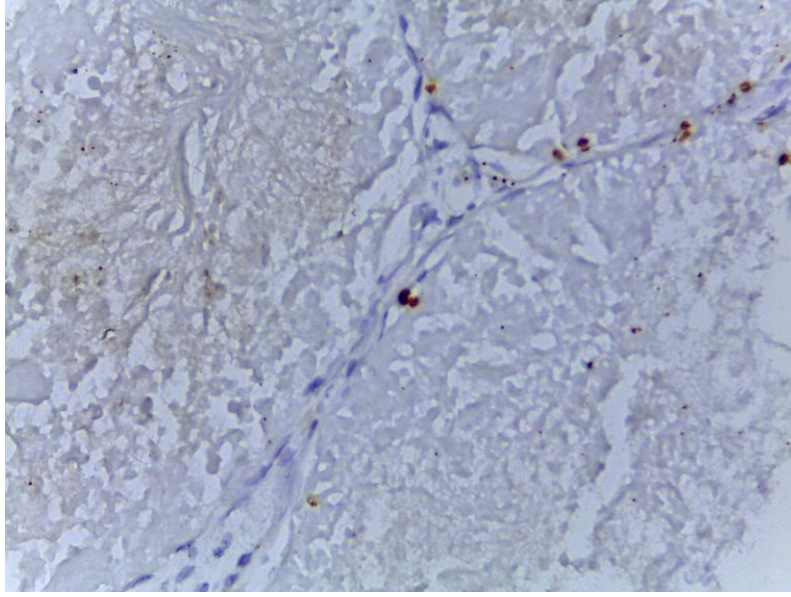
Şekil 4.3.21. Kontrol_grubu seminifer tübül hücrelerinde TUNEL (+) hücre görülmemektedir. TUNEL boyama x40.



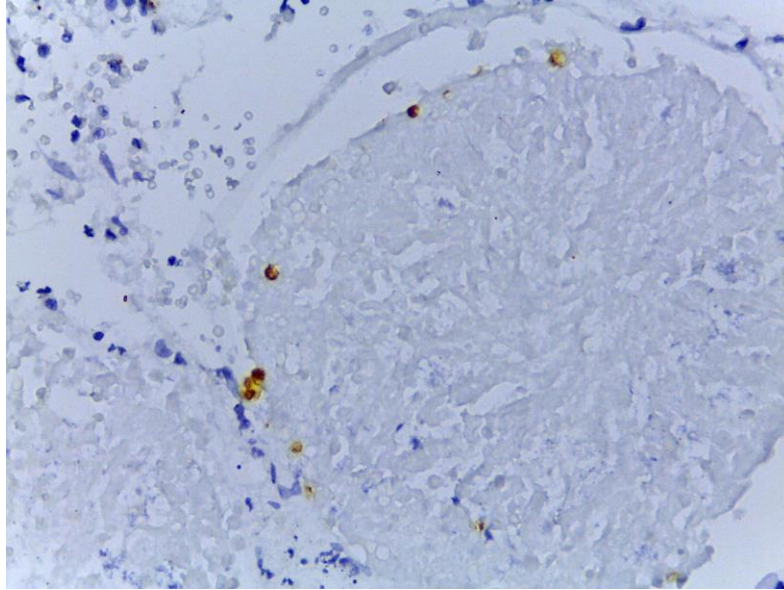
Şekil 4.3.22. Cd verilen grupta seminifer tübüllerde TUNEL (+) boyanmış spermatogenetik hücreler görülmektedir. TUNEL boyama x40.



Şekil 4.3.23. Cd verilen grupta seminifer tübül içindeki TUNEL (+) apoptotik hücreler görülmektedir. TUNEL boyama x40



Şekil 4.3.24. Cd + PCA verilen grupta seminifer tübüllerde azalmış TUNEL (+) hücreler görülmektedir. TUNEL boyama x40.



Şekil 4.3.25. Cd + CO verilen grupta, PCA verilen gruba göre TUNEL (+) boyanan hücrelerin daha fazla olduğu görülmektedir. TUNEL boyama x40.

Kontrol grubuna ait testis dokularının (Şekil 4.3.1), spermatogenetik hücrelerin (Şekil 4.3.2), ve intertisyal alanda Leydig hücrelerinin (Şekil 3) normal yapıda olduğu görüldü. Sadece PCA (Şekil 4.3.4) ve CO (Şekil 4.3.5) verilen grupların testis dokuları kontrol grubuna benzemektedir. PAS boyaması değerlendirmesinde kontrol (Şekil 4.3.6), sadece PCA (Şekil 4.3.7) ve sadece CO (Şekil 4.3.8) verilen gruplarda bazal membran yapıları benzerlik göstermektedir. Herhangi bir dejenerasyon, kalınlaşma tespit edilmemiştir. Massom Trikrom boyaması dğerlendirmesinde ise kontrol, sadece PCA ve sadece CO verilen gruplarda seminifer tübüller arasında bağ doku artışı olmadığı gözlenmiştir (Şekil 4.3.9). Cadmiyum toksisitesi oluşturulan grupta seminifer tübüllerin ileri derecede dejenere olduğu, spermatogenetik hücre serilerinin net olarak ayırt edilmediği, intertisyal dokuda çok sayıda inflamatuvar hücre artışı, ödem saptandı (Şekil 14.3.10). Seminifer tübüllerdeki dejenerasyona bağlı olarak Epididimis bez tübüllerinde sperm gözlenmedi (Şekil 4.3.11). Aynı grupta dejenerasyona bağlı seminifer tübül lümenlerinde hücrel artıkların yer aldığı (Şekil 4.3.12), intertisyal dokuda çok sayıda nötrofil (Şekil 4.3.13) ve artmış bağ dokusu (Şekil 4.3.14) ve bazal membran yapılarının (Şekil 4.3.15) bozulduğu tespit edildi. Leydig hücreleri ve Sertoli hücreleri ayırt edilememektedir. Cadmiyum toksisitesi oluşturularak PCA verilen grupta intertisyal alanlarda Cd verilen gruba göre ödem ve inflamatuvar hücrelerin azalmış olduğu (Şekil 4.3.16), seminifer tübül lümenlerinde sperm kuyruklarının ve başlarının belirgin olduğu (Şekil 4.3.17) görüldü. Cadmiyum ile birlikte CO verilen grubun testis yapısı PCA verilen gruba benzemektedir, inflamatuvar hücre sayısı azalmıştı ancak PCA verilen gruba göre daha fazla sayıda saptandı (Şekil 4.3.18). Cd +PCA ve Cd +CO gruplarının belirgin ve düzgün olmayan bazal membran yapıları birbirlerine benzemektedir (Şekil 4.3.19, Şekil 4.3.20). Kontrol grubu (Şekil 4.3.21) ile karşılaştırıldığında Cd verilen grup seminifer tübül hücrelerinde TUNEL (+) boyanmış spermatogenetik hücrelerin artmış olduğu (Şekil 4.3.22, Şekil 4.3.23), Cd+PCA (Şekil 4.3.24) ve Cd+CO (Şekil 4.3.25) verilen gruplarda azalmış olarak gözlendi, CO ile tedavi edilen grupta TUNEL (+) hücreler, PCA ile tedavi edilen gruba göre daha fazla olduğu görüldü.

5.TARTIŞMA

Kadmiyum, ağır metaller grubunda olup son yıllarda yapılan çalışma sonuçlarına göre dokulara ağır zarar vermesi nedeniyle ağır metaller kategorisinde Grup 2A'dan Grup I'e yükseltilmiştir (Didem ve ark.,2017, WHO 2010). Kadmiyum özellikle vücuttaki organlar üzerinde toksik etki yaratmaktadır. Bu etki özellikle testis yapısında , böbreklerde, kan damarlarında büyük ölçüde olmaktadır. Kadmiyum, özellikle testislerin şeklinde , boyutunda , ağırlığında ve renginde geri dönüşümsüz hasarlara yol açmaktadır (Peggy ve ark.,1977, Angelis ve ark.2017). Kadmiyum testis dokusunda ağırlık kaybına neden olmaktadır. Kontrol grubu ile kadmiyumlu grubun testis ağırlıkları karşılaştırıldığında, kontrol grubunun testis ağırlığı 1.37gr iken kadmiyumlu grubun testis ağırlığı 0.58gr olarak bulunmuş ve iki grup arasında anlamlı farklı değerleri, olduğu bildirilmiştir (Peggy ve ark.1977, Angelis ve ark.2017 , Asharaf ve ark.,2014). Kadmiyumun seminifer tübüllerdeki dejenerasyonuna bağlı olarak ağırlık kaybının olduğu gözlenmiştir (Ige ve ark.,2012).

Çalışmamız sonucunda grupların vücut ağırlıklarının karşılaştırıldığında gruplardaki deneklerin deney süresi sonunda vücut ağırlıklarının artmış olduğu, ancak en az kilo artışının kadmiyumlu grupta; en çok artışın ise PCA'lı grupta olduğu tespit edilmiştir. Kadmiyum ile PCA grubu ve Kadmiyumlu grubun testis ağırlıkları değerlendirildiğinde p değerinin 0.006 olduğu hesaplanmıştır. Hesaplanan p değerinin 0.05'den küçük olması 2 grup arasındaki ağırlıklarda anlamlı bir azalma olduğunu göstermektedir. Kadmiyum ile C.Olitorius grubu ve Kadmiyumlu grubun testis ağırlıkları değerlendirildiğinde p

değerinin 0.016 olduğu ve böylelikle 0.05'den küçük olduğu hesaplanmıştır. Elde edilen bu değer 2 grup arasında ağırlıkların anlamlı bir azalışta olduğunun göstergesidir.

Setchell BP ve ark.adaşları, yapmış oldukları çalışmada kadmiyumun seminifer tübüllerinin yapısında zamana bağlı olarak siddetini artan hasarla neden olduğunu gözlemişlerdir. Kadmiyum vücuta alındıktan 24 saat sonra dokulardaki etkisi görülmektedir (Singh ve ark.,1968; Martina ve ark.,1996). Yapılan çalışmalarda kadmiyumun seminifer epitel dokusu üzerinde değişikliğe neden olduğunu, nekroz ve apoptozise yol açtığı bildirilmiştir (Meek, 1959; Agustin ve ark.,1978; Hakan ve ark.,1999; Erica ve ark.,2010) Cristina de Angelis ve ark.adaşlarının yapmış olduğu çalışmada testis dokusunda nekroz oluşumun kadmiyumun dozu ve maruz kalma süresiyle doğru orantılı olduğunu gözlemiştir (Cristina ve ark.,2017). Kadmiyum seminifer tübüllerde Sertoli hücrelerini de olumsuz yönde etkilemektedir. Oluşan toksik etki Sertoli hücrelerinin sayısında azalmaya neden olmakta, Sertoli hücreleri dejenere olmakta, hücreler tam olarak ayırt edilememektedir. Sertoli hücrelerinin dejenerasyonu sonucunda ABP salgısı azalmakta ve tübül içine testesteron alımı azalmakta ve spermatogenezis azalmaktadır. Ayrıca spermatogenetik hücrelerin sayısı da azalmaktadır (Obianime ve ark.,2009). Fabricia de Souza Predes ve ark.adaşlarının 2010 yılında yapmış oldukları çalışmada kadmiyumun vücuta alındıktan sonraki 7. gününde seminifer tübüllerde Sertoli hücreleri ve spermiyumların hiç görülmediğini gözlemlenmiştir (Fabricia ve ark.,2010).

Kadmiyumunun dokularda oluşturmuş olduğu toksiteye bağlı dokularda inflamatuvar hücrelerde artış, özellikle nötrofil sayısında artış görülmektedir. İnflamatuvar hücrelerin

dokularda immunitiyi bozduğunu ve uzun süre Kadmiyuma maruz kalma sonucunda kanda monosit ve makrofaj sayısının arttığı bildirilmiştir (Cristina ve ark.,1992; Descates ,1992 -Hakan ve ark.1999). Kadmiyum maruziyetinin süresine bağlı olarak Leyding hücrelerinin de etkilendiği ve testesteron üretiminin azaldığı (Henson ve ark.,2004; Ige ve ark.,2012). Bazı çalışmalarda ise bu etkilenmenin geri dönüşümsüz olduğu (Peggy ve ark.,1977) gözlenmiştir. Kadmiyumun oluşturduğu dejenerasyonun bir göstergesi de seminifer tübüllerdeki hücre ölümlerini varlığını gösteren TUNEL boyamasıdır. Kadmiyum testis dokusunda apoptozisi artırmaktadır (Ronojoy ve ark.,2004; Erboga ve ark.,2011). PCA'nın apoptozisi azalttığı yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (Tanaka ve ark.1993; Adedara ve ark.,2018). Çalışmamızda sadece kadmiyum verilen grupta TUNEL (+) boyanan seminifer tübül hücrelerinin artmış olduğu, PCA ile tedavi edilen grupta azaldığı görülmüştür. Elde edilen bu sonuç PCA'nın anti-apoptotic özelliğini göstermektedir (Kakkar ve ark.2014). CO ile tedavi edilen gruptaki azalma PCA grubu kadar fazla değildi. Bu sonuç da PCA'nın CO'ya göre daha güçlü antioksidan etkiye sahip olduğunu göstermekteydi. PCA dokular ve hücreler üzerinde daha fazla antioksidant özelliği göstermektedir (Owumi ve ark.,2019). Genç ergen sıçanlara kadmiyum uygulanan grupta seminifer tübüllerde bozulmalar çok belirgindi ve yaygındı. Lümente sperm toplulukları gözlenemiyordu. Sertoli hücreleri ve Leydig hücreleri seçilemiyordu. Seminifer tübüllerinin bazal laminalarındaki düzensizlikler ve intertisyal dokuda çok sayıda inflamatuvar hücre yer almaktaydı, bağ dokusu belirgin olarak artmıştı. Yapısal bozuklukların ağır ve yaygın olması deney süresinin uzun olması ile ilişkilendirilmiştir. Kadmiyum uygulayıp PCA ve CO ile tedavi edilen gruplarda seminifer tübüllerdeki harabiyet devam etmekteydi, tedavi grupları yapısal olarak dejenerasyonu tamamen engellememişti. Seminifer tübüllerde Sertoli hücreleri spermatogenetik hücreler ve intertisyal dokuda Leydig hücreleri çok ayırt edilemiyordu. Bazı seminifer tübüllerde spermiyum toplulukları belirgin seçilmekteydi. İntertisyal alanda bağ doku artışı ve inflamatuvar hücre sayısı kadmiyumlu gruba göre daha azdı. Protocatechuic Asit (PCA) , alfa tocopherollere kıyaslandığında vücutta on kat daha fazla antioksidan özelliği olduğu gösterilmiştir (Tanaka ve ark.,1993). PCA'nın seminifer tübüllerindeki toksik etkiyi

azaltıp yapısal değişiklikleri engellediği, seminifer túbüllerin içerisinde spermiyumların bulunduğunu, spermatogenezin aktifleştii yönünde yorum yapmışlardır (Adedara ve ark.,2018). Corchorus Olitorius ise Vitamin C , Vitamin B3, Vitamin A, Vitamin B6 ve Vitamin E bakımından oldukça zengin bir bitkidir ve anti- inflamatuvar, antikanserojen etkileri tanımlanmıştır (Steinmetz ve ark.,1991; Zeghichi ve ark.,2003; Soykut ve ark.,2018; Adedosu ve ark.,2015). Çalışmamızın sonucunda PCA ile tedavi edilen deneklerde inflamatuvar hücre sayısı CO ile tedavi edilen gruba göre azalmış gözlenmiştir. PCA'nın antiinflamatuvar ve antioksidan etkilerinin CO'ya göre daha etkili olduğu belirlenmiştir. PCA dokular üzerinde güçlü bir antiinflamatuvar özelliğe sahiptir (Kakkar ve ark.,2019). Kadmiyumun oluşturduğu hasarın güçlü olması göz önüne alındığında CO ekstrelerinin düşük dozda kullanılması ve 21 gün kullanılması sonuçlarda etkili olmuştur. CO'nun 750, 1000 mg/kg dozları güvenli olarak kullanılmaktadır. Aynı şekilde PCA'nın yüksek dozda kullanılması kadmiyum etkisini daha hafifletecektir.

C. Olitorius ve PCA'nın tedavi edici özellikleri karşılaştırıldığında özellikle inflamaturar hücrelerinin varlığının azalmasına PCA'nın C. Olitoriusa göre daha fazla olduğu görölmüştür. Kadmiyumlu grubun testis dokuları üzerinde yaratmış olduğu hücre ölümlerine karşılık PCA'nın antiapoptotic etkisinin daha fazla olduğu görölmüştür.

6. SONUÇLAR

1. Genç ergen sıçanlara haftada 3,5mg/kg CdCl verilmiş ve testis dokusundaki değişiklikler incelenmiştir.
2. Kadmiyumun testislerde ağır harabiyete neden olduğu, spermatogenetik hücreleri, Leydig hücrelerini azalttığı, ara bağ dokuda bağ doku artışı ve inflamasyona yol açtığı, seminifer tübül bazal membranlarını bozduğu tespit edilmiştir.
3. Pozitif kontrol olarak antioksidan özelliği bilinen PCA ile C. Olitoriusun kadmiyumun testiste oluşturduğu hasara karşı olası önleyici/ etkileri hafifletici etkileri ışık mikroskopik olarak incelenmiştir.
4. PCA ve CO ile tedavi edilen gruplarda intertisyel dokuda inflamatuvar hücrelerin ve seminifer tübül hücrelerindeki apoptozisin kadmiyumlu gruba göre azaldığı saptanmıştır. Bu antioksidan maddeler hasarı tam olarak düzeltememişlerdir.
5. Uygulanan antioksidan maddelerin etkisinin az olması dozlarının düşük olması ve tedavi sürecinin kısa olması ile ilişkilendirilebilir. Özellikle daha yüksek dozlarda bu antioksidan maddelerin uygulanması daha etkili olacaktır.
6. Yapılan makale taramalarında kadmiyum toksisitesine karşı CO kullanılmış çalışma bulunamamıştır. Antioksidan ve antiinflamatuvar etkili maddeler ile yapılacak deneysel çalışmalara tespit edilen bu bilgilerin katkısı olacağı düşüncesindeyiz.

7. KAYNAKÇA:

1. A.W. Obianime, Roberts II.. Antioxidants, cadmium –induced toxicity, serum biochemical and the histological abnormalities of the kidney and testes of the male Wistar rats. Niger J Physiol Sci. 2009; 24(2):177-185
2. Adedara IA, Omole O, Okpara ES, Fasina OB, Ayeni MF, Ajayi OM, Busari EO, Farombi EO Impact of prepubertal exposure to dietary protocatechuic acid on the hypothalamic-pituitary-testicular axis in rats. Chem Biol Interact.2018; 290: 99-109
3. Adrien Negoescu, Lorimier P, Labat-Moleur F, Drouet C, Robert C, Guillermet C, Brambilla C, Brambilla E. . In Situ Apoptotic Cell Labeling by the TUNEL Method: Improvement and Evaluation on Cell Preparations. J Histochem Cytochem.1996; 44(9):959-968
4. Agarwal A, Majzoub A . Laboratory tests for oxidative stress. Indian journal of urology: IJU: journal of the Urological Society of India. Indian J Urol .2017; 33(3)199-206.
5. Agustin Aoki, Hoffer A P . Reexamination of the Lessions in Rat Testis Caused by Cadmium. Biology of Reproduction 1978;18(4): 579-591
6. Aitken RJ, Roman SD . Antioxidant systems and oxidative stress in the testes. Oxid Med Cell Longev.2008;1(1):15-24.
7. Akbal Ayla, Reşorlu H, Savaş Y. Toxic effects of heavy metals on bone tissue, Turkish Journal of Osteoporosis.2015;21: 30-33.
8. Anthony L. Mescher. JUNQUEIRA’S Basic Histology TEXT & ATLAS. 12th Edition.2010

9. Ashok Agarwal, Virk G, Ong C, Stefan S du Plessis. Effect of Oxidative Stress on Male Reproduction. *World J Mens Health*. 2014; 32(1):1-17.
10. Atef M.Al-Attar. Antioxidant effect of vitamin E treatment on some heavy metals-induced renal and testicular injuries in male mice. *Saudi J Biol Sci*.2010;18(1):63-72
11. Ben Pansky .Review of MEDICAL EMBRYOLOGY .1982
12. Beytur A, Ciftci O, Aydin M, Cakir O, Timurkaan N, Yilmaz F . Protocatechuic acid prevents reproductive damage caused by 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) in male rats. *44 Suppl 2011; 1:454-461*.
13. Block K I, Koch AC, Mead MN, Tothy PK, Newman RA, Gyllenhaal C . Impact of antioxidant supplementation on chemotherapeutic efficacy: a systematic review of the evidence from randomized kontrolrolled trials. *Cancer Treat Rev*.2007; 33(5):407-418.
14. Bostick R M, Potter JD, McKenzie DR, Sellers TA, Kushi LH, Steinmetz KA, Folsom AR . Reduced risk of colon cancer with high intakes of vitamin E. *Cancer Res*.1993; 53(18):4230-4247.
15. Bruno R S, Ramakrishnan R, Montine TJ, Bray TM, Traber MG. {alpha}-Tocopherol disappearance is faster in cigarette smokers and is inversely related to their ascorbic acid status. *Am J Clin Nutr*. 2005; 81(1): 95–103.
16. Calder PC . Polyunsaturated fatty acids and inflammation. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*.2006; 75(3):197–202.

17. Chedrese P J, Piasek M, Henson M C. Cadmium as an Endocrine Disruptor in the Reproductive System. Immunology, Endocrine & Metabolic Agents in Medicinal Chemistry. Volume 6 , Issue 2006; 1: 27-35
18. Christina de Angelis, Galdiero M, Pivonello C, Salzano C. The environment and male reproduction: The effect of cadmium exposure on reproductive function and its implication in fertility. Reprod Toxicol.2017; 73:105-127
19. Consolacion Ragasa, Vivar L J , Tan C M. Chemical Constituents of Corchorus olitorius Leaf. International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research 2016; 8(12)
20. Coşan T D, Dal A, Soyocak A, Çolak E, Çiçek A, Kurt H. The investigation of tannic acid effects on removal of heavy metals and some biochemical values in the rat toxicity induced by cadmium, Kocatepe Medical Journal .2017; 18:146-153.
21. Descotes,J (1992). Immunotoxicology of cadmium.IARC Sci Publ, 358-390
22. Dewanjee S, Gangopadhyay M, Sahu R, Karmakar S. Cadmium induced pathophysiology: prophylactic role of edible jute (Corchorus olitorius) leaves with special emphasis on oxidative stress and mitochondrial involvement. Food Chem Toxicol.2013 ;60:188-198
23. Doaa Mohamed, A. S., A. O., A. S.. Effect of Cadmium on the Testes of Adult Albino Rats And The Ameliorating Effect of Zinc and Vitamin E. British Journal of Science.2014;72-95

24. Engström A, Michaëlsson K, Vahter M, Julin B, Wolk A, Åkesson A. Associations between dietary cadmium exposure and bone mineral density and risk of osteoporosis and fractures among women, *Bone*.2012; 50(6):1372-1378.
25. Erboga M, Aktas C, Kanter M, , Ozturk S. Anti-apaptotik effects of Cadmium-induced apoptosis in rat testes. *Toxicol Ind Health*. 2011; 28(2):122-130
26. Erdemir Fikret, Fırat Fatih, Gençten Yusuf. The Evaluation and Clinical Significance of Sperm Morphology. *The Journal of Urology*.2011; 11-18
27. Erica R. Siu, Mruk DD, Porto CS, Cheng CY. Cadmium –induced Testicular Injury. *Toxicol Appl Pharmacol*.2009; 238(3) :240-249
28. Espevik T, Lamvik MK, Eik-Nes KB. Effects of cadmium on survival and morphology of cultured rat Sertoli cells. *J Reprod Fertil*.1982; 489-495
29. Fabricia de Souza Predes, Diamante M A, Dolder H. Testis response to low doses of cadmium in Wistar rats, *Int J Exp Pathol*. 2010; 91(2):125–131.
30. Fende PL, Niewenhuis RJ. An Electron Microscopic Study of the Effects of Cadmium Chloride on Cryptorchid Testes of the Rat. *Biol Reprod*.1977; 16(3):298-305
31. Grace Young . Spermatogenesis. *Encyclopaedia Britannica*.2016
32. Graham S, Zielezny M, Marshall J, Priore R, Freudenheim J, Brasure J, Haughey B, Nasca P, Zdeb M . Diet in the epidemiology of postmenopausal breast cancer in the New York State Cohort. *Am J Epidemiol*.1992;136(11):3127-3137
33. Gunsu Soykut, Eda Becer, Calis I, Yucecan S . Apoptotic effects of *Corchorus olitorius* L. leaf extracts in colon adenocarcinoma cell lines. *Progress in Nutrition*.2018; 20(4): 689-698

34. Hakan H. Aydın, B.E . Kadmiyum ve Biyokimyası. *Biyokimya Dergisi*.1999; 53-60
35. Helena Oliveiraa, Spanò M, Santos C, Pereira Mde . Adverse effects of cadmium exposure on mouse sperm. *Reprod Toxicol*.2009; 28(4):550-555
36. Henson M.C, Chedrese PJ . Endocrine distrupction by cadmium , a common environmental toxicant with paradoxical effect on reproduction. *Exp Biol Med (Maywood)*. 2004; 229(5):383-392
37. Hess RA. Quantitative and Qualitative Characteristics of the Stages and Transitions in the Cycle of the Rat Seminiferous Epithelium: Light Microscopic Observations of Perfusion-Fixed and Plastic-Embedded Testes. *Biol Reprod*.1990; 43(3):525-542 .
38. Hew KW, Heath GL, Jiwa AH, Welsh MJ. Cadmium In Vivo Causes Disruption of Tight Junction-Associated Microfilaments in Rat Sertoli Cells. *Biology of Reproduction. Biol Reprod*. 1993; 49(4); 840-849
39. Hitoshi Nishimura,Steven W.L'Hernaul. Spermatogenesis. *Curr Biol*. 2017 ;Sep 25;27(18)
40. Hoe Saeng Yang, Dong K. H, Jung R.K, Jae C. S. Effects of α -Tocopherol on Cadmium-Induced Toxicity in Rat Testis and Spermatogenesis. *J Korean Med Sci*.2006; 21(3) : 445-45
41. <http://phenol-explorer.eu/kontrolents/polyphenol/412>
42. <https://pfaf.org/user/Plant.aspx?LatinName=Corchorus+olitorius>
43. <https://uroklinik.com.tr/uzmanlik-alanlarimiz/erkek-ureme-sistemi/>
44. <https://www.britannica.com/science/testis>

45. https://www.researchgate.net/figure/Dietary-sources-of-3-monohydroxybenzoic-acid_tbl2_263293286
46. Islam M . Biochemistry, Medicinal and Food values of Jute, International Journal of Enhanced Research in Science Technology & Engineering. Vol. 2 Issue 11. 2013; ; 35-44.
47. İlhan S, Savaroğlu F, Çolak F . Antibacterial and Antifungal Activity of Corchorus olitorius L. (Molokhia) Extracts. International Journal of Natural and Engineering Sciences. 2007; 1(3): 59-61
48. Jahan S, Zahra A, Irum U, Iftikhar Nllah H. Protective effects of different antioxidants against cadmium induced oxidative damage in rat testis and prostate tissues. Syst Biol Reprod Med.2014; 60(4):199-205
49. Järup L, Berglund M, Elinder CG, Nordberg G, Vahter M. Health effects of cadmium exposure - a review of the literature and a risk estimate. Scand J Work Environ Health.1998;24 Suppl 1 5-51.
50. Johnson A D, Sigman MB. Early Scctions Of Cadmium In The Rat And Domestic Fowl Testis. J Reprod Fert. 1971; 24:115-117.
51. Junqueira's Basic Histology Text and Atlas. Anthony L. Mescher. Fourteenth Edition.
52. K.Singh,R.S Mathur. Action Of Cadmium On Some Testicular Enzymes Of The Desert Gerbil Meriones Hurrianæ Jerdon. J Reprod Fertil. 1968 Dec;17(3): 509-513
53. Kakkar Sahil & Souravh Bais . A Review on Protocatechuic Acid and Its Pharmacological Potential. ISRN Pharmacol.2014; 952943: 1-9.

54. Leslie P. Gartner, James L. Hiatt . COLOR TEXTBOOK OF HISTOLOGY . Third Edition.2007
55. Liu Q, Gu JH, Yuan Y, Liu XZ, Wang YJ, Wang HD, Liu ZP, Wang ZY, Bian JC. Effect of Cadmium on Rat Leydig Cell Testosterone Production and DNA Integrity in vitro. Biomed Environ Sci.2013; 26(9):769-773
56. Martina Piasek , Krista Kostial . Experimental Studies On Reproductive And Perinatal Effects Of Lead And Cadmium. Environmental Management and Health. Environmental Management and Health.1996; Vol. 7 No. 42: 9-32
57. Meek E S. Cellular changes induced by cadmium in mouse testis and liver. Br J Exp Pathol. 1959 Oct; 40(5): 503-507
58. Menkveld R. Clinical significance of the low normal sperm morphology value as proposed in the fifth edition of the WHO Laboratory Manual for the Examination and Processing of Human Semen. Asian journal of andrology.2010; 12 (1), 47-58 .
59. Michael H. Ross , W. Pawlina. Histology A Text And Atlas . Sixth Edition .2011
60. Mohamed Loumerem , Adriana Alercia. Descriptors for jute (Corchorus olitorius L). Genet Resour Crop Evol. 2016; 63(7) :1103–1111
61. Nawrot T, Geusens P, Nulens TS, Nemery B. Occupational cadmium exposure and calcium excretion, bone density, and osteoporosis in men. J Bone Miner Res.2010; 25(6):1441-1445.
62. O. J. Lucis, Z. A. Shaikh,J. A. EmbilJr . Cadmium as a trace element and cadmium binding components in human cells. Experientia.1970; Volume 26, Issue 10:1109-1110

63. Ognjanović B I, Pavlović SZ, Maletić SD, Zikić RV, Stajn AS, Radojčić RM, Sačić ZS, Petrović VM . Protective Influence of Vitamin E on Antioxidant Defense System in the Blood of Rats Treated with Cadmium. *Physiol Res* .2003;52(5):563-570
64. Olaniyi T. Adedosu , Olufemi E. Akanni 2 , Olusegun K. Afolabi and Adebayo L. Adedeji . Effects of Corchorus olitorius Extract on Certain Antioxidants and Biochemical indices in Sodium Arsenite Exposed Rats. *AJPCT*. 2015; 2321 – 2748: 245-256
65. Olorunfemi R. Molehin & Anne A. Adeyanju & Stephen A. Adefegha & Seun F. Akomolafe. Protocatechuic acid mitigates adriamycin-induced reproductive toxicities and hepatocellular damage in rats. *Comparative Clinical Pathology*. 2018; Volume 27, Issue 6: 1681–1689
66. O'Shaughnessy PJ. Hormonal kontrolrol of germ cell development and spermatogenesis. *Semin Cell Dev Biol*. 2014; 29:1-11
67. Ramaswami L S , Kaul D K . The effect of cadmium and selenium on the testis of the desert gerbil *Meriones hurrianæ* Jerdon. *Journal of Microscopy*.2011; 85(3):297 - 304 .
68. Ronojoy Sen Gupta, Kim J, Gomes C, Oh S, Park.,J, Im WB, Seong JY, Ahn RS, Kwon HB, Soh J . Effect of ascorbic acid supplementation on testicular steroidogenesis and germ cell death in cadmium-treated male rats. *Molecular and Cellular Endocrinology*. 2003; 221(1-2):57-66
69. S. Asha Devi . Oxidative Stress on Male Reproductive Toxicity .*Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res.*, 2016; 36(2) : 143-147

70. Saleh RA, HCLD. Oxidative stress and male infertility: from research bench to clinical practice. *Journal of Andrology*.2002; 23(6) :737-752.
71. Saliha Rizvi, S. T. The Role of Vitamin E in Human Health and Some Disease Sultan Qaboos University Med J.2014; Vol. 14, Iss. 2157-165.
72. Samuel A. Gunn, Gould T C, Anderson W A. The selective injurious response of testicular and epididymal blood vessels to cadmium and its prevention by zinc. *Am J Pathol*. 1962; 42: 685-702
73. Sarah F Ige , Olaleye SB, Akhigbe RE, Akanbi TA, Oyekunle OA, Udoh UA. Testicular toxicity and sperm quality following cadmium exposure in rats. Ameliorative potentials of *Allium cepa*. *J Hum Reprod Sci*. 2012; 5(1): 37-42
74. Sarwat Jahan, Zahra A , Irum U, Iftikhar N, Ullah H. Protective effects of different antioxidants against cadmium induced oxidative damage in rat testis and prostate tissues. *Syst Biol Reprod Med*. 2014 ;60(4):199-205
75. Sehil Kakkar, Bais S . A Review on Protocatechuic Acid and its Pharmacological Potential. *ISRN Pharmacology*. 2014; Volume 2014. 1-9
76. Setchell B P, Waites G M . Changes in the permeability of the testicular capillaries and of the 'blood-testis barrier' after injection of cadmium chloride in the rat. *The Journal of endocrinology* .1970; 81-86.
77. Singh U, Devaraj S, Jialal I. Vitamin E, oxidative stress, and inflammation. *Annu Rev Nutr*.2005; 25:151–174.

78. Solomon E. Owumi , Ochaoga S E, Odunola O A, Farombi E O . Protocatechuic acid inhibits testicular and epididymal toxicity associated with methotrexate in rats. *Andrologia*. 2019;00:e13350. 1-9
79. Sponmenka Telisman, Jurasović J, Pizent A, Cvitković P . Cadmium in the blood and seminal fluid of nonoccupationally exposed adult male subjects with regard to smoking habits. *International Archives of Occupational and Environmental Health*.1997; Volume 70, Issue 4 : 243-248.
80. T.W. Sadler . *LANGMAN Medikal Embriyoloji*. 11. Baskı. 2011
81. Takuji Tanaka, Toshihiro Kojima, Toshihiko Kawamori, Naoki Yoshimi, and Hideki Mori . Chemoprevention of Diethylnitrosamine-induced Hepatocarcinogenesis by a Simple Phenolic Acid Protocatechuic Acid in Rats. *Cancer Res*. 1993; 53(12): 2775-2779.
82. Teikari JM, Virtamo J, Rautalahti M, Palmgren J, Liesto K, Heinonen OP. Long-term supplementation with alpha-tocopherol and beta-carotene and age-related cataract. *Acta Ophthalmol Scand*. 1997; 75(6): 634-640.
83. Theresa Ezedomab, Samuel O A. Effect of a kontrolrolled food-chain mediated exposure to cadmium and arsenic on oxidative enzymes in the tissues of rats. *Toxicol Rep* .2016; 25;3708-715
84. Traber MG, Atkinson J. Vitamin E, antioxidant and nothing more. *Free Radic Biol Med*.2007; 43(1):4-15
85. Troy Cox 2. Sex-determining Region Y in Mammals. *Embryo Project Encyclopedia*.2013:12-3

86. Tuna Erdem, Fatih Hatipoğlu . Ratlarda tek doz uygulanan kadmiyum toksikasyonunun patolojisi ve eş zamanlı uygulanan klorpromazinin koruyucu etkisinin araştırılması. Eurasian J Vet Sci.2011; Cilt 27, Sayı 1: 45-58
87. Turner TT, L. Lysiak JJ. Oxidative stress: a common factor in testicular dysfunction. J Androl. 2008; 29(5): 488-498
88. Twigg JP, Irvine DS, Aitken RJ. Oxidative damage to DNA in human spermatozoa does not preclude pronucleus formation at intracytoplasmic sperm injection. Hum Reprod.1998; 13(7):1864–1871.
89. Victor P. Eroschenko. Atlas of Histology. Twelfth Edition.
90. Vitamin E . National Institutes of Health.
91. Warren JS, Johnson KJ, Ward PA. Oxygen radicals in cell injury and cell death. Pathology and immunopathology research. 1987; 6(5-6): 301-315.
92. WHO. Exposure to cadmium: a major public health concern. 2010
93. WHO Laboratory manual for the examination and processing of human semen. 5th edition, Cambridge: Cambridge University Press, 2010
94. Wu K, Willett WC, Chan JM, Fuchs CS, Colditz GA, Rimm EB, Giovannucci EL. A prospective study on supplemental vitamin E intake and risk of colon cancer in women and men. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2002; 11(11):1298-1304.
95. Wu X, Guo X, Wang H, Zhou S, Li L . A brief exposure to cadmium impairs Leydig cell regeneration in the adult rat testis. Sci Rep. Sci Rep.2017; 7(1)
96. Z.A. Zakaria, Sulaiman MR, Arifah AK, Mat Jais M, Somchit MN, Kirisnaveni K, Punnitharrani D, Safarul M, Fatimah C A and Johari R. The Anti-inflammatory and

Antipyretic Activities of *Corchorus olitorius* in Rats, Volume 1.2006
; (2): 139-146.

97. Zeghichi Sabrina, Kallithraka S, Simopoulos AP. Nutritional Composition of Molekhia (*Corchorus Olitorius*) and Stamnagathi (*Cichorium spinosium*). *World Rev Nutr Diet*.2003; 91:1-21

EKLER

Histology

ORIGINALITY REPORT

2 %	2 %	1 %	%
SIMILARITY INDEX	INTERNET SOURCES	PUBLICATIONS	STUDENT PAPERS

PRIMARY SOURCES

1	hdl.handle.net Internet Source	<1%
2	acikerisim.aku.edu.tr Internet Source	<1%
3	www.yumpu.com Internet Source	<1%
4	www.mrbreadmaker.co.uk Internet Source	<1%
5	neu.edu.tr Internet Source	<1%
6	www.coursehero.com Internet Source	<1%
7	www.openaccess.hacettepe.edu.tr:8080 Internet Source	<1%