

← Adınızı soyadınızı giriniz

Tez kabul edildikten sonra yapılan **sabit ciltte sırt yazısı** bu şablona göre yazılacak. Yazılar tek satır olacak
Cilt sırtı yazıların yönü yukarıdan aşağıya
(sol yandaki gibi) olacak .



← Tez, Yüksek Lisans'sa, YÜKSEK LİSANS TEZİ;
Doktora ise DOKTORA TEZİ ifadesi kalacak

← Tez Sınavının yapılacağı yılı yazınız

**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

**ADOLESAN ÇAĞDAKİ SIÇANLARIN EPİDİDİMİNDEN
ALINAN SPERMLERE VE TESTİS LEYDİĞ
HÜCRELERİNE SİGARA DUMANININ VE KURKUMİN
ANTİOKSİDANININ ETKİLERİNİN MİKROSKOPİK
İNCELENMESİ**

ASLI GÜMÜŞEL

**DANIŞMAN
PROF. DR. FARUK ALKAN**

**HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ PROGRAMI**

İSTANBUL-2013

TEZ ONAYI

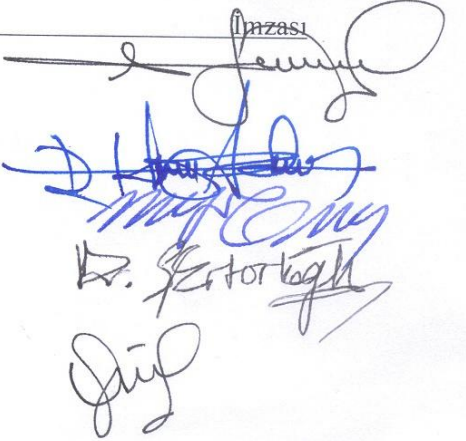
İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji Embriyoloji Anabilim Dalı Histoloji Embriyoloji Programında Aslı GÜMÜŞEL tarafından hazırlanan Adolesan çağıdaki sıçanların epididiminden alınan spermlere ve testis leydig hücrelerine sigara dumanının ve kurkumin antioksidanının etkilerinin mikroskoik incelenmesi başlıklı Yülsek Lisans tezi, yapılan tez sınavında Jürimiz tarafından başarılı bulunarak kabul edilmiştir.

26 / 07 / 2013

Tez Sınav JürisiÜnvanı Adı Soyadı (Üniversitesi, Fakültesi, Anabilim Dalı)

- 1.Prof. Dr. Faruk ALKAN
- 2.Prof. Dr. Oktay ARDA
- 3.Prof. Dr. Yakup TUNA
- 4.Prof. Dr. Ahmet Şenol ERTÜRKÖĞLU
- 5.Doç. Dr. Emine Elif GÜZEL

İmzası



Dr. Şertoroglu

Jüri

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmayla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

ASLI GÜMÜŞEL

(İmza)



İTHAF

Dayım KEMAL BAHTİYAR'a ithaf ediyorum...

TEŞEKKÜR

Tezimin başlangıç aşamasından sonuna kadar bilgi ve tecrübeleri ile hep yanımda olan, tezim için gerekli tüm imkanları sağlayan ve manevi desteğini hiçbir zaman esirgemeyen danışman hocam Sayın Prof. Dr. Faruk ALKAN'a teşekkürlerimi sunarım.

Tezimin deney kısmında tecrübelerini ve bilgilerini esirgemeyen, her zaman desteğini gördüğüm Sayın hocam Prof.Dr.Oktay ARDA'ya teşekkürlerimi sunarım. Çalışmalarım sırasında bana güvenen ve beni motive eden, her zaman manevi desteğini gördüğüm Sayın Prof. Dr. Şenol ERTÜRKÖĞLU'na teşekkür ederim.

Ayrıca yüksek lisans eğitimime katkıları olan kürsümüzün değerli hocaları Sayın Prof. Dr. İsmail SEÇKİN'e, Sayın Prof. Dr. Hüseyin OKTAR'a, Sayın Prof. Dr. Meral KOYÜTÜRK'e, Sayın Prof.Dr. Mustafa TAŞYÜREKLİ'ye tek tek teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans eğitimim boyunca beni hep destekleyen, bilgilerini benimle paylaşmaktan çekinmeyen ve her türlü problemimde yanımda olan Sayın Doç.Dr. Elif GÜZEL'e çok teşekkür ederim.

Tezim sırasında yardımcı olan ve bana yol gösteren Araş. Gör. Dr. Murat BAŞAR'a ve Araş. Gör. Dr. Gamze TANRIVERDİ'ye teşekkürlerimi sunarım. Tezimin istatistik kısmında bilgilerini benimle paylaşan Sibel Demirci, Alev Bakır ve Pınar Ambarcıoğlu'na teşekkür ederim.

Tezimin laboratuvar kısmında bana yardımcı olan, bilgilerini benimle paylaşmaktan çekinmeyen Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Kadın Doğum Üreme ve Infertilite Bölümü Androloji Laboratuvarı çalışanları Bio. Cumhur KRAL, Uzm. Bio. Naciye EROL, Uzm. Hemşire Hülya ŞENOL'a teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans arkadaşlarım başta Özgür DEMİRKIRAN ve John Akrofi KUBİ olmak üzere Ahmet URAL, Elif YAPRAK SARAÇ, Bio.İlkay Teyyareci ÖZDEMİR, Kübra CİĞERİM, Uzm. Dr. Pelin ERTÜRKÜNER, Bio. Mediha ESER, Uzm. Bio. Emine MAMAL, Dr. Güneş ÖZDOĞAN, Dr. Esra GÜLER, Bio. Burcu BİLTEKİN, Belisa KALECİ, Serbay ÖZKAN, Başak IŞILDAR, Tuğba EKİZ, Selenay FURAT, Zehra SEZER'e teşekkürlerimi sunuyorum.

Tezimin elektron mikroskopi parçalarının hazırlanmasında yardımcı olan Azize HARDAL GÜMÜŞYAZICI ve Ercüment BOZTAŞ'a çok teşekkür ederim.

3 senemi beraber geçirdiğim, yüksek lisans ve ev arkadaşım Erengül TOKAY'a dostluğu, manevi desteği ve her türlü yardımı için teşekkür ederim.

Eğitim hayatım boyunca maddi-manevi desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen, bu tezi bitirebilmemde sabır ve destekleriyle yardımcı olan, aldığım her kararda yanımda olan canım annem Sayın Şengül GÜMÜŞEL'e ve babam Hakan GÜMÜŞEL'e ve kardeşim Gizem GÜMÜŞEL'e şükranlarımı ve minnetlerimi sunuyorum.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No:22934

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	HATA! YER İŞARETİ TANIMLANMAMIŞ.
BEYAN.....	HATA! YER İŞARETİ TANIMLANMAMIŞ.
İTHAF.....	iii
TEŞEKKÜR.....	v
İÇİNDEKİLER	vi
TABLolar LİSTESİ.....	vii
ŞEKİLLER LİSTESİ	viii
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	xi
ÖZET	xii
ABSTRACT.....	xiii
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	4
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	27
4. BULGULAR.....	33
5. TARTIŞMA	61
KAYNAKLAR	66
ETİK KURUL KARARI	73
ÖZGEÇMİŞ	74

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 1: Deney gruplarına göre apoptotik hücre sayılarının istatistiksel analizini gösteren tablo.....	42
Tablo 2: Deney gruplarına göre sıçanların vücut ağırlıklarının istatistiksel analizini gösteren tablo.....	43
Tablo 3: Deney gruplarına göre sperm sayılarının istatistiksel analizini gösteren tablo.....	44
Tablo 4: Deney gruplarına göre morfolojik olarak başsız kuyruk anomalisine sahip sperm sayılarının istatistiksel analizini gösteren tablo.....	46
Tablo 5: Deney gruplarına göre morfolojik olarak kırık boyun anomalisine sahip sperm sayılarının istatistiksel analizini gösteren tablo	47
Tablo 6: Deney gruplarına göre morfolojik olarak kırık kuyruk anomalisine sahip sperm sayılarının istatistiksel analizini gösteren tablo	49
Tablo 7: Deney gruplarına göre morfolojik olarak kıvrık kuyruk anomalisine sahip sperm sayılarının istatistiksel analizini gösteren tablo	50
Tablo 8: Deney gruplarına göre morfolojik olarak kuyruksuz baş anomalisine sahip sperm sayılarının istatistiksel analizini gösteren tablo	52
Tablo 9: Deney gruplarına göre morfolojik olarak toplu iğnebaşı anomalisine sahip sperm sayılarının istatistiksel analizini gösteren tablo	53

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1: Erkek üreme sistemi	4
Şekil 2-2 Testisin anatomik yapısı	8
Şekil 2-3: Kan-testis bariyeri, bazal ve apikal kısım.	10
Şekil 2-4: Seminifer tübül epiteli ve interstisyel alan. Hematoksilen+Eosin (H+E) boyası	13
Şekil 2-5: Spermatogenez: Mitoz, mayoz ve spermiyogenez.....	15
Şekil 2-6: Sıçanlarda spermatogenez: Mitoz, mayoz ve spermiyogenez	16
Şekil 2-7: Spermiyogenez sırasında gerçekleşen değişimler	19
Şekil 2-8: Antioksidanların sınıflandırılması.....	22
Şekil 2-9: Sigara.....	23
Şekil 2-10: Kurkuminin kimyasal yapısı	26
Şekil 2-11:Curcuma Longa bitkisi ve rizomları	26
Şekil 4-1: Kontrol grubuna ait testis kesitinde normal seminifer tübül epiteli, Leydig hücresi, Sertoli hücresi, spermatogonyum, myeloid hücre, lümen, bazal membran, kan damarı, H+E x20.....	33
Şekil 4-2: Kontrol grubuna ait testis dokusu kesitinde Leydig hücresi, Sertoli hücresi, myeloid hücre, spermatogonyum, bazal membran, H+E x 100.....	34
Şekil 4-3: Sadece sigara inhalasyonu uygulanan gruba ait testis kesitinde seminifer tübül epiteli, Leydig hücresi, Sertoli hücresi, spermatogonyum, bazal membran, myeloid hücre, lümen, H+E x 20	35
Şekil 4-4: Sadece sigara inhalasyonu uygulanan gruba ait testis kesitinde Leydig hücresi, Sertoli hücresi, spermatogonyum, bazal membran, myeloid hücre, kan damarı, H+E x 100.....	36
Şekil 4-5: Sadece sigara inhalasyonu uygulanan gruba ait testis kesitinde lümene atılmış olgunlaşmamış spermatidler, lümen, H+E x 40.....	36
Şekil 0-6: Kurkumin uygulanan gruba ait testis kesitinde seminifer tübül epiteli, Leydig hücresi, Sertoli hücresi, spermatogonyum, kan damar, myeloid hücre, lümen, H+E x 20.....	37
Şekil 4-7: Kurkumin uygulanan gruba ait testis kesitinde Leydig hücresi, Sertoli hücresi, spermatogonyum, kan damarı, myeloid hücre, bazal membran, H+E x 100.....	38

Şekil 4-8: Kurkumin grubuna ait testis kesitinde lümene atılmış olgunlaşmamış spermatidler, lümen, H+E x 20.....	38
Şekil 4-9: Sigara + Kurkumin grubuna ait testis kesitinde seminifer tübül epiteli (1), Leydig hücresi, Sertoli hücresi, spermatogonyum, bazal membran, myeloid hücre, lümen, H+E x 20.....	39
Şekil 4-10: Sigara + Kurkumin grubuna ait testis kesitinde Leydig hücresi, Sertoli hücresi, spermatogonyum, kan damarı, bazal membran, myeloid hücre, H+E x 100. ...	40
Şekil 4-11: A:kontrol grubu, B:sigara grubu, C:kurkumin grubu, D:sigara+kurkumin grubunda görülen apoptotik hücreler (x40).	41
Şekil 4-12: Deney gruplarına göre apoptotik hücrelerin istatistiksel grafiği. Kontrol grubu, Sigara grubu, Kurkumin grubu, Sigara + Kurkumin grubu.....	42
Şekil 4-13: Deney gruplarına göre sperm sayılarının istatistiksel grafiği. Kontrol grubu, Sigara grubu, Kurkumin grubu, Sigara + Kurkumin grubu.	45
Şekil 4-14: Deney gruplarına göre başsız kuyruk anomalisine sahip spermilerin istatistiksel grafiği. Kontrol grubu, Sigara grubu, Kurkumin grubu, Sigara + Kurkumin grubu	46
Şekil 4-15: Deney gruplarına göre kırık boyun anomalisine sahip spermilerin istatistiksel grafiği. Kontrol grubu, Sigara grubu, Kurkumin grubu, Sigara + Kurkumin grubu.	48
Şekil 4-16: Deney gruplarına göre kırık kuyruk anomalisine sahip spermilerin istatistiksel grafiği. Kontrol grubu, Sigara grubu, Kurkumin grubu, Sigara + Kurkumin grubu	50
Şekil 4-17: Deney gruplarına göre kıvrık kuyruk anomalisine sahip spermilerin istatistiksel grafiği. Kontrol grubu, Sigara grubu, Kurkumin grubu, Sigara + Kurkumin grubu	51
Şekil 4-18: Deney gruplarına göre kuyruksuz baş anomalisine sahip spermilerin istatistiksel grafiği. Kontrol grubu, Sigara grubu, Kurkumin grubu, Sigara + Kurkumin grubu	52
Şekil 4-19: Deney gruplarına göre toplu iğne başı anomalisine sahip spermilerin istatistiksel grafiği. Kontrol grubu, Sigara grubu, Kurkumin grubu, Sigara + Kurkumin grubu.	53
Şekil 4-20: Kontrol grubuna ait Leydig hücresi. Nukleus, Nukleolus, Lipid damlası, x12.000.	54

Şekil 4-21: Kontrol grubuna ait Leydig hücresi. Nukleus, Mitokondri, Lipid damlası, Düz endoplazmik retikulum , Granüllü endoplazmik retikulum, Filopod, x25.000.....	55
Şekil 4-22: Kontrol grubuna ait Leydig hücresi. Nukleus, Mitokondri, Lipid damlası, Düz endoplazmik retikulum, Granüllü endoplazmik retikulum, Filopod, x40.000.....	55
Şekil 4-23: Sigara grubuna ait Leydig hücresi. Nukleus, Mitokondri, Lipid damlası, Filopod, x10.000.	56
Şekil 4-24: Sigara grubuna ait Leydig hücresi. Nukleus, Mitokondri, Lipid damlası, Düz endoplazmik retikulum, Granüllü endoplazmik retikulum, Golgi aygıtı, x40.000.....	57
Şekil 4-25: Sigara grubuna ait Leydig hücresi. Nukleus, Mitokondri, Lipid damlası, Düz endoplazmik retikulum, Granüllü endoplazmik retikulum, Pinositotik vesikül, x40.000	57
Şekil 4-26: Kurkumin grubuna ait Leydig hücresi. Nukleus, Nukleolus, Mitokondri (M), Lipid damlası, x25.000.	58
Şekil 4-27: Kurkumin grubuna ait Leydig hücresi. Nukleus, Nukleolus, Mitokondri, Lipid damlası, Düz endoplazmik retikulum, Granüllü endoplazmik retikulum (GER), Filopod, x40.000.	58
Şekil 4-28: Sigara+kurkumin grubuna ait Leydig hücresi. Nukleus, Mitokondri, Lipid damlası, Düz endoplazmik retikulum, Granüllü endoplazmik retikulum, x40.000.....	59
Şekil 4-29: Sigara+kurkumin grubuna ait Leydig hücresi. Nukleus, Nukleolus, Mitokondri, Düz endoplazmik retikulum, x30.000.	60

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

- DER:** Düz endoplazmik retikulum
cAMP: Siklik adenosin monofosfat
LH: Lüteinleştirici hormon
CoA: Koenzim A
StAR: Steroidogenik akut regülatör protein
TBF: Testis belirleyici faktör
GER: Granüllü endoplazmik retikulum
ABP: Androjen bağlayıcı protein
FSH: Folikül uyarıcı hormon
DNA: Deoksiribonükleik asit
P450cc: Kolesterol side-chain cleavage enzim
FLH: Fetal Leydig hücresi
OLH: Olgun Leydig hücresi
Ap: Açık tip spermatogonyum A
Ad: Koyu tip spermatogonyum A
ROT : Reaktif oksijen türevleri
UV: Ultraviyole
SOD: Süperoksit dismutaz
GSH-Px: Glutasyon peroksidaz
G6DP: Glukoz 6-fosfat dehidrogenaz
MDA: Malondialdehit
DMSO: Dimetilsülfoksit
DMEM F12: Dulbecco's Modified Eagle Medium Nutrient Mixture F-12
PBS: Fosfatla tamponlanmış tuz çözeltisi
H+E: Hematoksilen+Eozin

ÖZET

Gümüşel, A. Adolesan çağdaki sıçanların epididiminden alınan spermlere ve testis Leydig hücrelerine sigara dumanının ve kurkumin antioksidanının etkilerinin mikroskopik incelenmesi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Histoloji-Embriyoloji A.D. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul 2013.

Oksidatif stres, anormal sperm üretimine ve sperm fonksiyonunda bozulmaya neden olur. Önceki çalışmalarda içerdiği toksik maddelerden dolayı sigaranın Leydig ve Sertoli hücrelerinde hasar oluşturduğu ve spermatogenik hücrelerin proliferasyonunu engellediği gösterilmiştir. Kurkumin ise geniş çapta farmakolojik ve biyolojik aktiviteye sahip bir bileşiktir. Kurkuminin antioksidan etkileri çok sayıda çalışma ile kanıtlanmıştır.

Çalışmamızda 150-200 gr ağırlığında yaklaşık 2 aylık 32 adet erkek Wistar albino sıçan 8'erli 4 gruba ayrıldı. Kontrol grubu olan ilk gruba 28 gün boyunca gavaj yoluyla 1ml/kg dimetilsülfoksit (DMSO) verildi. 2. gruba 28 gün boyunca, gavaj yoluyla 1ml/kg DMSO verildi ve günde 2 saat sigara dumanı etkisi altında bırakıldı. 3. gruba 28 gün boyunca günde 100 mg/kg kurkumin 1 ml/kg DMSO'da çözünerek gavaj yolu ile verildi. 4. grup ise 28 gün boyunca günde 2 saat sigara dumanı etkisi altında bırakıldı ve günde 100 mg/kg kurkumin 1ml/kg DMSO'da çözünerek gavaj yolu ile verildi. Hayvanlar 28. günde kurban edildi. Epididimin kuyruk kısmından alınan spermlerin morfolojik incelemesi ve Makler kamerasında sayımı yapıldı. Sonuçlar tek yönlü varyans analizi ile istatistiksel olarak incelendi. Hayvanların testisleri ışık ve elektron mikroskopik incelemeler için uygun fiksatife alınıp rutin takip ve gömme prosedürü uygulandı.

Sonuç olarak, hem ışık mikroskopik hemde elektron mikroskopik incelemelerde sigaranın spermatogenezi ve Leydig hücrelerini olumsuz yönde etkilediği ve sperm sayısını azaltıp, anormal sperm sayısını artırdığını gözlemledik. Kurkumin antioksidanının ise sperm sayısını artırdığını, anormal morfolojiye sahip spermleri azalttığını yani olumsuz etkilerin iyileştirmesinde rol oynadığını saptadık.

Anahtar Kelimeler: Kurkumin, Sigara, Sıçan Testis, Sıçan Leydig Hücreleri, Işık ve Elektron Mikroskobu

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 22934

ABSTRACT

Gümüşel, A. The microscopic investigation of cigarette smoke and antioxidant effects of curcumin on the sperm cells acquired from the epididymis and the Leydig cells of the adolescent rats. İstanbul University, Institute of Medical Sciences, Histology and Embryology Department. Master Thesis. İstanbul 2013.

Oxidative stress causes abnormal sperm production and impairs the sperm functions. The previous outcomes of scientific research show that the toxic substances in cigarette smoke injured Leydig and Sertoli cells and they also inhibited spermatogenic cells. Curcumin is a compound that has a wide range of pharmacologic and biologic activities. Numerous studies proved its antioxidant effects.

We used approximately 2 months old, 32 male Wistar albino rats, weighing 150-200 g in this research and divided them into 4 groups. Each group contained 8 animals. We gave 1ml/kg dimethylsulfoxide (DMSO) by gavage to the control group for 28 days. The second group exposed to 2 hrs. of cigarette smoke and received 1ml/kg DMSO by gavage daily for 28 days. The third group received 100 mg/kg curcumin dissolved in 1ml/kg DMSO daily by gavage for 28 days. The fourth group exposed to 2 hrs. of cigarette smoke and received 100 mg/kg curcumin dissolved in 1 ml/kg DMSO by gavage daily for 28 days.

We counted the sperms obtained from the tail of epididymis in Makler chamber, and prepared smears to examine the sperm morphology. The testis specimens prepared with appropriate methods for light and electron microscopy. The statistic results of the cell counts, sperm morphology, and body weights analyzed by one-way ANOVA.

In conclusion, light and electron microscopical examinations showed that cigarette smoke have adverse effects on spermatogenesis, and Leydig cells. It decreased sperm counts and increased the abnormal sperm counts. However the antioxidant effects of Curcumin increased the sperm counts and decreased the amount of sperms having abnormal morphology. Thus, Curcumin plays an important role in decreasing the negative effects of cigarette smoke on sperm counts and abnormalities.

Key Words: Curcumin, Cigarette smoke, Rat Testis, Rat Leydig Cells, Light and Electron Microscopy

The present work was supported by the Research Fund of Istanbul University. Project No. 22934

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Erkek üreme sistemi; spermleri üreten, bazı dış salgıları ve androjenleri sentezleyip salgılayan organlardan oluşur. Erkek üreme organları, dış ve iç erkek üreme organları olarak iki grupta incelenir. Dış erkek üreme organları; skrotum, glandula bulbo üretralis, üretra ve penisi kapsar. İç erkek üreme organları ise; testis, epididim, duktus deferens, glandula vesiküloza ve prostatı içerir. Bir çift testis karın boşluğunun dışında skrotum içerisinde yer alır. Bu durum testis sıcaklığının, vücut içi sıcaklığından 2°-3°C daha düşük olmasını (yaklaşık 34°-35°C) sağlar. Çünkü normal spermatogenez için sıcaklık 34°-35°C civarında olmalıdır. Dışarıya sperm taşınmasından sorumlu olan kanallar sistemini oluşturan epididim ve duktus deferens; spermin olgunlaşmasını ve depolanmasını sağlar. Ejakülatör kanallar ve erkek üretrasının bir kısmı da spermin dışarıya atılmasında rol oynar. Aksesuar bezler olan prostat ve glandula vesiküloza, ürettikleri bir takım salgılarla ejakülat ve semen kitlesini oluştururlar. Penis ise erektile dokulardan oluşan çiftleşme organıdır (1,2).

Testisler, tunika albuginea adı verilen kalın bir bağ dokusu kılıf ile sarılmıştır. Tunika albuginea, arka yüzde epididimin yerleştiği bölgede, mediastinum testisten içeriye doğru septalar halinde uzanarak, testisi birbirleri ile ilişkili 250 civarında bölmeye veya testisküler lopçuğa ayırır. Her bir lopçuk içerisinde sarmal bir yapı gösteren 1-4 tane seminifer tübül bulunur. Her bir seminifer tübül, sürekli çoğalan spermatogenik (germ) hücreler ile çoğalma göstermeyen anaç Sertoli hücrelerini içeren germinal epitele sahiptir. Seminifer tübülde spermatogenik hücreler mitozla çoğalırlar ve mayoz bölünme geçirerek sperm hücrelerine farklılaşırlar. Her bir seminifer tübül; fibroblastlar, miyoepitelyal hücreler, sinirler, kan damarları ve lenfatik damarlarla sarılıdır. Bu dokuya interstisyel doku adı verilir. Bu doku içerisinde interstisyel hücreler veya Leydig hücreleri olarak adlandırılan endokrin karakterli hücrelere rastlanır. Leydig hücreleri, tek tek veya topluluklar halinde, kan damarlarının, sinüzoidlerin ve lenfatik damarların yakınında yerleşim gösterirler. Steroid üreten birçok endokrin hücre gibi Leydig hücreleri de lipid damlacıkları, karakteristik tübüler kristal mitokondriler ve iyi gelişmiş düz endoplazmik retikulum (DER) içerir. Puberteden sonra, bir siklik adenozin monofosfat (cAMP) aracılı mekanizma tarafından lüteinleştirici hormon (LH) ile uyarılmanın ardından, Leydig hücreleri, 5 α -redüktaz enzimi ile dihidrotestosterona

dönüştürebilen, testosteron üretirler. Serumda bulunan testosteronun yaklaşık %95'i Leydig hücreleri tarafından sentezlenir. Testosteronun %5'i ise adrenal korteks tarafından üretilir. Testosteron; spermatogenezin, erkek libidosunun ve erkek aksesuar bezlerinin (prostat ve glandula vesiküloza) fonksiyonlarının sürdürülmesini sağlar. Ayrıca sekonder seks karakterlerinin ortaya çıkmasını sağlar ve kemik gelişimini etkiler. Leydig hücre fonksiyonu, hipofiz tarafından salgılanan LH ve prolaktin tarafından düzenlenir. Prolaktin, LH reseptörünün gen ekspresyonunu düzenler. LH, testosteron üretiminden sorumludur. Testosteron sentezi sırasında plazma kolesterolü hücreye girer, asetil koenzim A (CoA) tarafından esterleştirilir ve sitoplazmada lipid damlacıkları şeklinde depolanır. DER'de, yağ asitleri kolesterole dönüştürülür. Kolesterol, yağ damlacıklarından mitokondriyonlara steroidogenik akut regülatör protein (StAR) aracılığıyla taşınır ve pregnenolon üretilir. DER'deki enzimler, pregnenolonu progesterona ve progesteronu da testosterona dönüştürür (1,2).

Sıçan spermi baş, orta ve kuyruk kısımlarından oluşur. Sıçan sperminin başı yaklaşık olarak 2,5 µm uzunluğunda ve çengel şeklindedir. Baş kısmı, yoğun bir nukleusa ve uç kısmında da daha az yoğun akrozoma sahiptir. Orta kısımda, az sayıda büyük mitokondriler helizon şeklinde kıvrılarak yerleşmişlerdir. Kuyruk, orta kısımdaki merkez iplikçik ve etrafındaki destek kılıf yapılarıyla birlikte uzun bir yapıya sahiptir, sperm hareketinde pervane görevi yapar. Sıçan spermi anomalileri; başsız sperm, yassılaştırmış baş, toplu iğne başı, kıvrılmış boyun, kıvrılmış kuyruk olarak sınıflandırılabilceği gibi çoklu anomali denen kıvrılmış boyun ve kıvrılmış kuyruğun tek bir sıçan sperminde gözlemlendiği anomaliler de mevcuttur (3).

Sigaranın, içerdiği toksik maddelerden dolayı organizmadaki tüm sistemlere negatif etkileri vardır. Testis dokusu oldukça vasküler bir dokudur, bu nedenle sigara içmek, oksidan ve antioksidan enzim sistemleri arasındaki dengeyi bozabilir. Sonuç olarak, serbest radikaller oluşur ve testiküler doku hasarı meydana gelir. Oksidatif stres, anormal sperm üretime ve sperm fonksiyonunda bozulmaya neden olur (4,5,6,7). Sigaranın Leydig ve Sertoli hücrelerinde hasara neden olduğu, testosteron ve LH seviyelerini düşürdüğü, spermatogenik hücrelerin proliferasyonunu engellediği daha önceki çalışmalarda gösterilmiştir (6,8,9).

Turmerik, Zerdeçal veya Latince ismi ile *Curcuma longa*; kısa köklü, 1 yıllık, boyu 1 metre kadar olan Zingiberaceae ailesine ait otsu bir bitkidir. Anavatanı

Hindistan olarak bilinir. Bu bitkinin kökünden elde edilen sarı renkli toz Türkiye'de turmerik veya zerdeçal olarak, Hindistan'da ise turmerik, haridra veya haldi olarak adlandırılır. Turmerik veya diğer ismi ile zerdeçal sadece sağlık için değil, gıda maddelerinin korunması, tatlandırılması için ve tekstilde sarı renkli bir boya maddesi olarak kullanılan altın renkli bir baharattır (10).

Kurkuminİ turmerik bitkisinin rizomlarından elde edilen, turmeriğe sarı rengini veren kimyasal bir bileşiktir. Suda ve eterde çözünmez iken etanolde, dimetilsülfoksitte (DMSO) ve diğer organik çözücülerde çözünebilir. (15,16). Ticari kurkuminde yani zerdeçalda, kurkuminoidler olarak adlandırılan üç ana komponent mevcuttur. Bunlar; kurkumin (77%), dimetoksikurkumin (17%) ve bis-dimetoksikurkumindir (3%). Kurkumin geniş çapta farmakolojik ve biyolojik aktiviteye sahiptir (11). Kurkuminin; antioksidan (12,13,14) ve antikanser (11) etkileri, çok sayıda deneysel ve klinik çalışmalar ile kanıtlanmıştır.

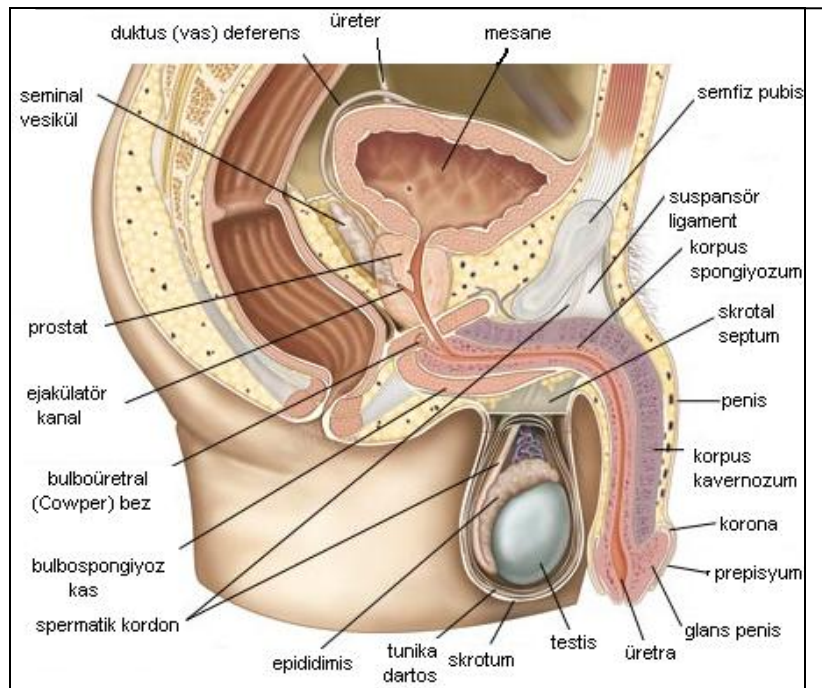
Sigaranın spermatogenezi olumsuz yönde etkilediği, Leydig ve Sertoli hücrelerinde hasara neden olduğu (4,6) ve kurkuminin antioksidan etkilerinin (12,13,14) bilinmesine rağmen, her ikisinin de bir arada uygulanıp erkek sıçanların sperm sayısı, morfolojisi, Leydig hücreleri ve hormonları ile ilgili bir çalışma yapılmamıştır.

Biz bu çalışmamızda sigara dumanı nedeni ile hasarlanan testis dokusunda oluşan ve epididimin kuyruk kısmında kümelenen spermelerin sayısında ve morfolojisinde görülen değişimler ile Leydig hücrelerinde meydana gelen hasarı mikroskopik incelemeyi ve ayrıca bir antioksidan olan kurkuminin bu durumlara etkilerini araştırmayı amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Erkek Üreme Sistemi

Erkek üreme sistemi; iç ve dış erkek üreme organlarından oluşur. İç erkek üreme organları; hem ekzokrin hem de endokrin salgı yapan testisleri, yardımcı bezleri ve spermi taşıyan boşaltım kanallarını kapsarken dış erkek üreme organları; glandula bulbo üretralis, penis, üretra ve skrotumu kapsar. Testisler, karın boşluğunun dışında skrotum içerisinde yerleşir ve bu durum testislerin vücut ısısından 2-3°C daha düşük bir ısıda olmalarını sağlar. Bu şekilde normal bir spermatogenez için gerekli olan 34- 35 °C'lik ortam sağlanmış olur. Testisler, tunika albuginea ile sarıdır ve erkek üreme hücrelerinin üretildiği germinal epitele sahip seminifer tübüller ile intertisyel bağ dokusundan oluşur. Testislerde üretilen spermiler, her bir testise ait olan sırasıyla rete testis, duktuli eferentes, epididim, duktus deferens ve ejakülatör kanaldan geçer. Daha sonra penil üretra yoluyla penise yönelir. Erkek üreme sistemindeki yardımcı bezler; iki adet seminal vezikül, prostat bezi ve bir çift bulbo üretral (Cowper) bezleridir. Penis ise dıştan ince bir deri ile sarılı erektile iki adet korpus kavernoza penis ve penil üretrayı saran yarı erektile bir adet korpus spongiyoz penis isimli yapılardan oluşan bir çiftleşme organıdır (Şekil 2-1)(1, 17).



Şekil 2-1: Erkek üreme sistemi (18)

2.2. Genital Sistem Gelişimi

Genetik olarak cinsiyet döllenme ile belirlense bile gonadlar erkek ve dişi karakterlerini gelişimin 7. haftasına kadar kazanamazlar. 7. haftadan önce genital sistem her iki cinste de benzer olduğundan dolayı bu periyoda farklılaşmamış dönem adı verilir.

Y kromozomunun kısa kolu üzerindeki SRY geni tarafından kodlanan Testis belirleyici faktör (TBF), farklılaşmamış gonadı testis yönünde gelişmeye yönlendirir. Primer germ kordonunun erkekte seminifer tübüllere farklılaşması Y kromozomunun etkisi altında gerçekleşir. Y kromozomunun bulunmadığı durumda farklılaşmamış gonadlar ovaryum olarak gelişir. Yani döllenmeyi yapan spermin X veya Y kromozomu taşıması, farklılaşmamış gonadlardan farklılaşan gonadın tipini belirler. Gonad tipine göre de hem genital kanallar hemde dış genital organlar erkek yada dişi cinsiyete ait özellikler yönünde gelişirler. Erkek ve dişi karakterlerin oluşmasında hormonların etkisi son derece önemlidir. Erkeğe özgü sekonder karakterlerin gelişimini etkileyen hormon testislerdeki Leydig hücreleri tarafından salgılanan testosteron iken, dişinin cinsiyet farklılaşması hormonlara bağlı değildir. Ovaryumlar olmasa da farklılaşma gerçekleşir (19, 20).

Genetik olarak dişi olan embriyoyu, erkeklik hormonu vererek erkeklik karakterleri gösteren bir embriyo haline getirmek mümkündür. Böyle durumlarda ovaryum haricinde bütün genital organlar erkeklik yönünde gelişecektir. Dış görünüşün erkek özellikleri taşımasına rağmen aslında genetik bakımdan dişi olan bu canlılarda, testis yerine ovaryum bulunur. Bu durumun tam tersi, yani genetik bakımdan erkek olan bir embriyoya dişilik hormonu verilerek embriyonun dişilik yönünde gelişimi mümkün değildir. Bu dönemde uygulanan dişilik hormonu her iki cinsiyet içinde öldürücü bir etkiye sahiptir. Çünkü erkek embriyo, annede bulunan dişilik hormonuna karşı bir direnç gösterir. Eğer bu direnç olmasaydı erkek yavru doğma olasılığı söz konusu olamazdı (20).

2.2.1. Gonad Gelişimi

Gonadlar 3 farklı yapıdan gelişmektedir (19).

1. Posteriyor abdominal duvarı örten mezodermal sölom epiteli (mezotel)
2. Mezenşim
3. Primordial germ hücreleri

2.2.2. Farklılaşmamış Gonadlar

Gonadların ilk taslakları, mezonefrozun medial tarafındaki mezodermal sölom epitelyum hücrelerinin çoğalıp epiteli kalınlaştırmasıyla belirir. Çizgi şeklinde olduğu için bu taslağa stria genitalis adı verilir. Aynı zamanda epitelin altında bulunan mezenşimde de bir hareketlilik olur ve mezenşim hücreleri çoğalıp bir araya gelerek mezenşimal blastemi oluştururlar. Stria genitalis ve mezenkimal blastem ortaya çıkmak için herhangi bir dış etkene ihtiyaç duymazlar. Bu şekilde 4 haftalık bir embriyoda mezonefroz ve dorsal mezenter arasında, orta çizginin her bir kenarında mezotel hücreleri ve mezenşimin çoğalmasıyla genital kabartı veya gonadal kabartı olarak adlandırılan bir çift longitudinal kabartı oluşur. Bundan sonraki aşamada gelişim için primordial germ hücrelerinin tetiklenmesi gerekir.

Primordial germ hücreleri, insan embriyosunda embriyonik yaşamın yaklaşık 21. gününde allantoise yakın vitellus kesesinin kaudal duvarındaki endodermal hücrelerden farklılaşırlar. Bu hücrelerin 25-30 mikron çapında oldukça büyük ve küresel bir yapısı vardır. Sitoplazmalarında çok miktarda lipid bulunmasından dolayı granüllü bir görünüme sahiptirler. Sitoplazmalarında iki sentriyol ve iyi gelişmiş bir golgi aygıtı görülür. Endodermal hücreler, ameboid hareketlerle allantoisin arkasından geçer ve dorsal mezenter yoluyla stria genitalis bölgesine göç ederler. Bu bölgeye ulaştıklarında, bir kısmı mezenkimal blastem içerisinde kalırken diğer kısmı stria genitalis epitel hücreleri arasına girerler. Primordiyal germ hücrelerinin indükleyici etkisiyle, buradaki epitel hücreleri mezenkimal blastem içine girerek primer germ kordonları olarak adlandırılan düzensiz sütuncukları meydana getirirler. Gelişimin bu evresinde erkek ve dişi gonadlar arasında bir farklılık olmadığından dolayı bu gonada farklılaşmamış gonad adı verilir. Gonadlar, erkek ve dişi yönde 7. haftadan itibaren farklılaşmaya başlarlar.

Germ kordonları, erkekte kompakt görünümeleri sayesinde mezenkimal dokudan kolayca ayrılabilir. Bu kordonlar ergin bireyde tubuli kontorti seminiferi ile

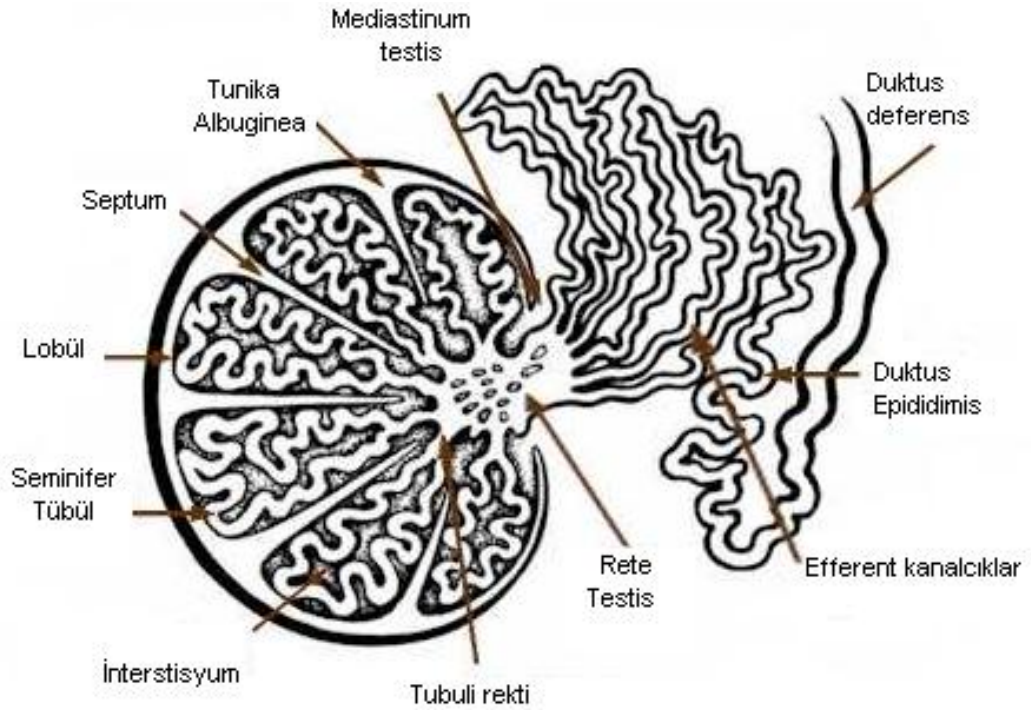
tubuli rektiye, kordonların ileri uçları ise rete testis halleriye oluşturur. Başlangıçta germ hücrelerine göre çok daha küçük olan Sertoli hücreleri ise stria genitalis epitel hücrelerinden gelişir.

Gelişim sırasında germ kordonları bağlı oldukları epitelden ayrılırlar ve ayrıldıkları alan mezenkimal fibröz doku ile doldurulur. Bu fibröz doku daha sonra Tunika Albuginea'yı oluşturacak dokudur. Stria genitalis epiteli ise tunika albuginea'yı örten bir mezotel olarak kalır (17,19,20).

2.3. Testis Histolojisi

Testisler (Şekil 2-2), 4-5 cm uzunluğunda, 2,5-3,5 cm genişliğinde, 2-2,5 cm kalınlığında karın boşluğunun dışında skrotum içerisinde yer alan bir çift organdır. Karın boşluğunun dışında olmaları, normal spermatogenez için gerekli olan 34°-35°C'lik ısının oluşmasını sağlar (1,17). Testisler, sperm ve erkek cinsiyete ait sekonder (ikincil) özelliklerin oluşumunu sağlayan testosteron hormonunun üretim yeridir (2). Dışarıdan tunika albuginea adı verilen, sıkı düzenli bağ dokusundan oluşan, beyaz, 1mm kalınlığında elastik olmayan bir kapsülle çevrilidir. Tunika albuginea, testisin arka yüzünde, epididimin organa yaslandığı yerde kalınlaşarak mediastinum testis olarak adlandırılan yapıyı oluşturur. Mediastinum testisten, testiküler kitleyi bölümlere ayıracak şekilde ışınal tarzda fibröz septumlar tunika albuginea ile birleşerek 250-300 adet birbiri ile irtibatlı olabilen bölmelere ayırır. Her bir bölmede gevşek bağ dokusu ile sarılı, piramidal, 1-4 adet tübül yer alır. Tübüller; spermatogenik hücreleri içeren tubuli kontorti seminiferi ve spermatogenik hücre içermeyen tubuli rekti adı verilen bölümlerden oluşur. Tubuli kontorti seminiferi (seminifer tübüller) yaklaşık olarak 150 µm çapında ve 30-80 cm uzunluğunda kıvrıntılı borucuklardır. Bunların devamı olan tubuli rektiler ise epitelyum ile döşeli borucuklardır. Bu tübülerin toplam uzunlukları 250 m civarındadır. Bu tübüller arasında, kollajen ve retiküler lifler ile çeşitli bağ doku hücrelerinden oluşan gevşek bir interstisyel bağ dokusu bulunur. Bu bağ dokusu içerisinde bol miktarda kan ve lenf damarları, sinirlerin yanı sıra kapiler yakınında toplanmış veya tek tek yerleşmiş interstisyel hücreler (Leydig) bulunur. Bir seminifer tübül, somatik Sertoli hücreleri ve spermatogenik hücreleri içeren seminifer epitel ile döşeli bir merkezi lümeninden ibarettir (Şekil 2-4). Bir seminifer tübül dıştan merkezi lümenine doğru, lamina propria, taban zarı, bazal membran, Sertoli hücreleri ve seminifer epitelden oluşur.

1. Lamina propria: Tip I kollajen lifleri, fibroblastları ve içerisinde aktin filamentleri bulunan miyoid hücrelerini içerir. Miyoid hücreler, ritmik kasılma aktivitesine sahiptirler ve hareketsiz spermilerin rete testise ilerlemesinde yardımcı olan hücrelerdir.
2. Taban zarı: Elastik lif içeriği yüksek olup ve myoid hücre tabakasının altında yer alır. Yaşa bağlı kalınlaşma gösterir.
3. Bazal membran: Seminifer tübül kesintisiz bir bazal membrana sahiptir. Elektron mikroskopta genellikle miyoid hücrelerin bazal membranları ile birbirine yakın olarak gözlemlenir.
4. Seminifer epitel (1, 2, 17).



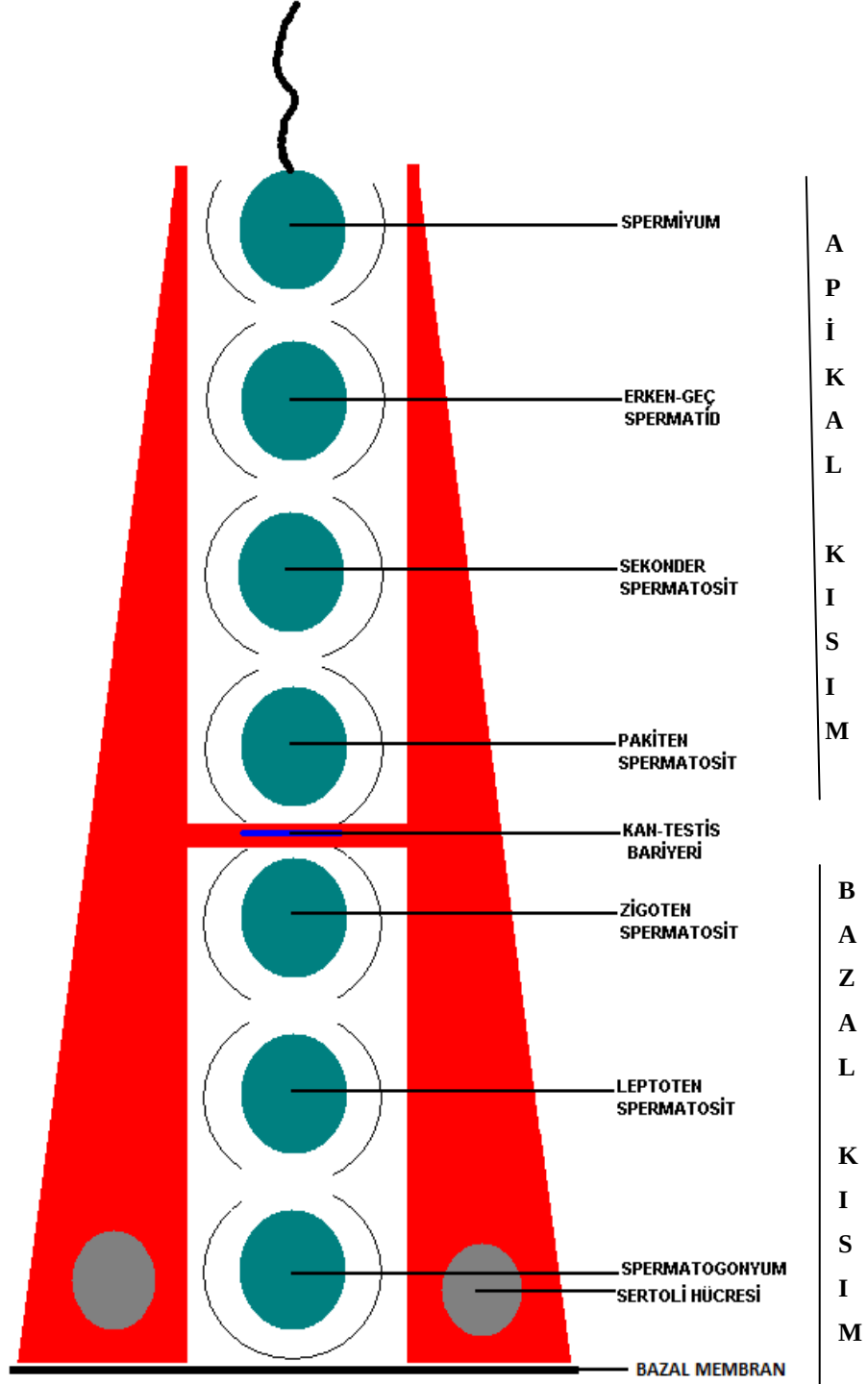
Şekil 2-2 Testisin anatomik yapısı (21)

2.3.1. Sertoli Hücreleri

Sertoli hücreleri (Şekil 2-4), testislerin işlevlerini yerine getirmesi açısından önemli bir role sahiptir. Testiküler tübüleri oluşturan germinal epitelden köken alırlar. Spermatogenik serideki hücreleri, kendilerine ait ceplerde tutan uzamış piramidal şekilli hücrelerdir. Tabanları bazal membrana tutunurken apikal uçları seminifer tübül lümenine uzanır. Bu sayede spermatogonium dışındaki tüm germ hücrelerini bazal membrandan ayırır. Puberteden sonra seminifer tübül içerisinde bulunan hücrelerin yaklaşık %10'u Sertoli hücrelerinden oluşur. Sertoli hücreleri soluk renkli, ökromatik, oval bir çekirdeğe ve belirgin bir nukleolusa sahiptir. Sitoplazmalarında mikrotübüllerden ve ara filamanlardan oluşan gelişmiş bir hücre iskeleti bulunur. Çok sayıda yassı mitokondrileri vardır (1,17). Sitoplazmalarında ayrıca paralel yerleşmiş granüllü endoplazmik retikulum (GER), çok sayıda lipid damlacığı ve lipofuksin içeren lizozomlar ile kristaloid yapılar bulunur. Sertoli hücreleri ile spermatogenik hücreler arasında yer yer görülen bağlantı komplekslerinden başka, bütün Sertoli hücreleri taban ve yan yüzeylerindeki sıkı bağlantı kompleksleri ile (zonula ocludens, tight junction) birbirlerine tutunur. Bu bağlantıların oluşturduğu kan-testis bariyeri (Şekil 2-3), seminifer tübül epitelinin bazal ve apikal (subluminal, adluminal) olmak üzere iki işlevsel bölüme ayırır. Bazal bölümde spermatogonyumlar ve primer spermatositler görülürken apikal bölümde 1. mayoz bölünmenin profaz safhasının pakiten aşamasında olan primer spermatositler, sekonder spermatositler ve spermatidler gözlemlenir. Kan-testis bariyeri sayesinde, mayoz bölünmeye başlamış, kromozom sayıları ve yüzey antijenleri sürekli değişen spermatositlerin vücut tarafından yabancı kabul edilip vücudun immun reaksiyon vermesi engellenir. Bu şekilde bir bariyer olmadığı takdirde sperm spesifik bir antikorun üretildiği görülmüştür. Genel olarak Sertoli hücresinin görevleri:

1. Gelişmekte olan germ hücrelerine fiziksel destek sağlar.
2. Spermatogenik hücreler için gerekli olan metabolit, steroid ve besinleri sağlar.
3. Seminifer tübüllere dış ortamdan bazı maddelerin geçişini önler.
4. Androjen bağlayıcı protein (ABP) salgılar.
5. Spermiyogenez sırasında atılan sitoplazma parçalarını ve dejenere spermatidleri fagosit eder.
6. İnhibin sentezleyip salgılayarak folikül uyarıcı hormon (FSH) salgılanmasını inhibe eder.

7. Gelişme sırasında Anti-Müllerian hormon salgılar ve böylece Müller kanallarının baskılanıp Wolff kanallarının erkek genital boşalma kanallarına farklılaşmasını sağlar (1, 2, 17, 22, 23)



Şekil 2-3: Kan-testis bariyeri, bazal ve apikal kısım.

2.3.2. İnterstisyel Alan

Testisin yaklaşık %20-%30'unu interstisyel bağ dokusu (Şekil 2-4) oluşturur. Seminifer tübüller arasındaki alanı dolduran interstisyel bağ doku, kollajen ve retiküler lifler ile çeşitli bağ doku hücrelerini içeren gevşek bağ doku özelliğindedir. İçerisinde kapiler etrafında toplanmış hormon üreten Leydig hücre kümeleri, sinirler ve lenf damarları bulunur (1,17).

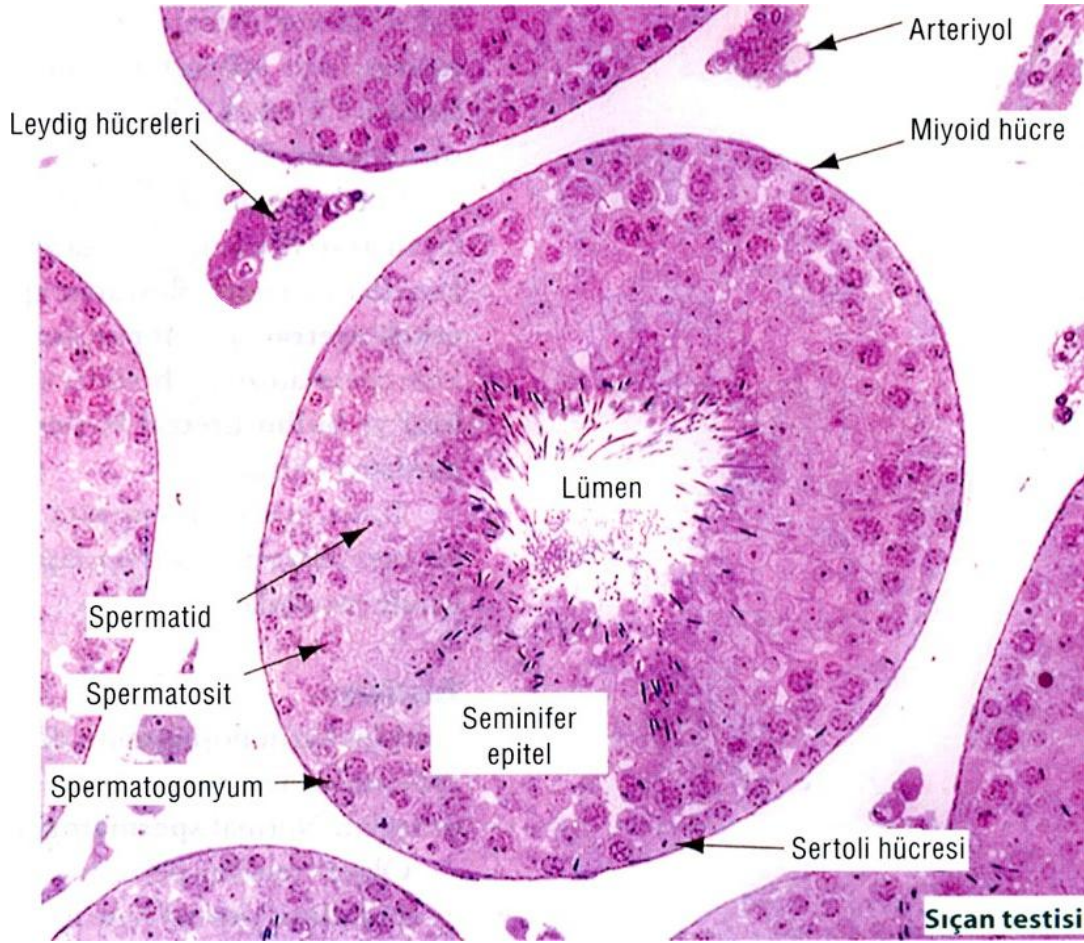
2.3.3. Leydig Hücreleri

Testisin iki özel görevi vardır, bunlardan biri spermatogenez ile sperm üretimi diğeri ise interstisyel Leydig hücrelerinden (Şekil 2-4) steroid sentezidir. Yani hem endokrin hem de ekzokrin hormon salgılayan guddede özelliğine sahiptir (24). Endokrin özelliğini sağlayan Leydig hücreleri sitoplazmalarında testosteron sentezi için depolanan kolesterole bağlı olarak yüksek düzeyde lipit içerir. Bu sebeple sitoplazması köpüksü bir görünüme sahiptir. Genellikle merkezin dışında yerleşim gösteren ve bir veya iki nukleolus sahip bir nukleus vardır. Hücre yüzeyinde çok sayıda mikrovillusları bulunur. Sitoplazmalarında yoğun, sıkı paketlenmiş DER bulunur. GER'e daha az rastlanır. Nukleusun hemen yanında büyük bir golgi kompleksi de sitoplazma içerisinde yer alır. Ayrıca çok sayıda tübülovesiküler kristalleri bulunan dağınık mitokondrilere ve değişik boyutlarda çok sayıda lipid damlacığına sahiptir (1,25). Sitoplazmalarında, elektron mikroskobu ile görülebilen 3-20 μ çapında, protein yapılı Reinke kristalleri adı verilen kristallere ve Rice body denilen kristaloid cisimlere rastlanır. Reinke kristalleri puberteden önce görülmez ve yaş ilerledikçe sayıları artan yapılardır. Yaş ilerledikçe sayısı artan bir diğer yapı da sarı-kahverengi bir pigment olan lipofuskindir. Leydig hücreleri genelde pencereci kapilerlere ve küçük lenf damarlarına yakın konumlanır (17,26).

Leydig hücreleri, erkek fertlerde sekonder seks karakterlerinin gelişmesinden sorumlu olan testosteron hormonunu üretirler. Testosteronun sentezi hücreler arası bir iş birliğinin sonucu olarak, mitokondrilere ve DER'de bulunan enzimler aracılığıyla kolesterolden üretilir. Kolesterol, zarla sarılı olmayan lipit damlacıklarında gerektiğinde kullanılmak üzere depolanır. Taşıyıcı proteinler tarafından kolesterol, mitokondrinin iç zarına aktarılır ve mitokondriler, LH etkisi ile kolesterolü pregnanolona çevirir. Ardından pregnanolon mitokondri zarından DER'e aktarılır ve DER üzerindeki enzimler tarafından pregnanolon, testostereona çevrilir. Aralıksız sentezlenen testosteron,

yüzeyinde kısa mikrovilluslar bulunan hücre zarından difüzyonla geçerek hücre dışı aralığa salınır ve dolaşımdaki steroid bağlayıcı proteinlere bağlanır (1). Steroidogenik akut düzenleyici protein (StAR), kolesterol side-chain cleavage enzim (P450cc) ve 3-beta dihidroksisteroid dehidrogenaz gibi birçok enzim testosteron üretiminin düzenlenmesinden sorumludur (27). Testosteron; Leydig hücreleri, Sertoli hücreleri ve germ hücreleri arasındaki etkileşimin yanı sıra damar sistemi üzerinde de merkezi bir role sahiptir (28).

Testiküler interstisyumda iki belirgin Leydig hücre popülasyonu bulunur. Bunlar fetal (FLH) ve olgun (OLH) Leydig hücreleridir. Embriyonik dönem boyunca, FLH'ler erkek fetüs maskülinizasyonu için temel olan androjenleri üretirler. FLH'lerde işlev yitimi veya FLH yokluğu pseudo-hermafroditizme yol açar. Erken postnatal dönem boyunca FLH geriler ve farklılaşmamış kök hücrelerden türeyen OLH, FLH'nin yerini alır. OLH, erkeklerde seksüel farklılaşmanın tamamlanması ve üreme fonksiyonları için gerekli olan testosteronu üretir. FLH ve OLH'lerin primordial kök hücrelerden türediğinin bilinmesine rağmen primordial kök hücrelerin kökeni bilinmediğinden dolayı Leydig hücrelerinin de kökeni tam olarak belli değildir. Bu duruma ait iki düşünce bulunmaktadır. Bunlardan biri mezoderm (mezonefrojenik mezenşim veya sölomik epitelyum) diğeri ise ektoderm (nöral krest) kaynaklı olduğu doğrultusundadır (26,29). Leydig hücrelerinden testosteronun sentezi ve sekresyonu, LH tarafından gönderilen uyarı ile gerçekleşir (1). Testeosteron seviyesi, Leydig hücrelerinin sayısına ve tek bir hücreden testosteron üretim kapasitesine bağlıdır (30). Yaşlı erkeklerde serum testosteron seviyesinin düşmesi yaşlı Leydig hücrelerinin fonksiyon bozukluğundan kaynaklanır (27).



Şekil 2-4: Seminifer tübül epiteli ve interstisyel alan. Hematoksilen+Eosin (H+E) boyası (1)

2.3.4. Spermatogenik Hücreler ve Spermatogenez

Spermatogonyumların çeşitli aşamalardan geçerek olgun spermlieri oluşturma olayına spermatogenez denir. Bu olay seminifer tübüleri döşeyen seminifer epitelde gerçekleşir. Spermatogonyumlar, yaklaşık olarak 12-15 μ çapında, bazal laminanın hemen üstünde yer alan diploid spermatogenik hücrelerdir. Spermatogonyumlar spermatogonyal kök hücrelerden kökenlenir. Yapı ve cinsel olgunluk çağında geçirecekleri değişimlere göre A tipi ve B tipi spermatogonyum (Şekil 2-5) olarak ikiye ayrılırlar.

2.3.4.1. Spermatogonyum A

İnsan testislerinde A tipi spermatogonyumlar, ince yapılarındaki değişimler göz önüne alınarak A₀, A₁, A₂ vs. gibi birçok tiplere ayrılmaktadır. Basit olarak

nukleuslarının koyu ve açık boyanmalarına göre iki tip spermatogonyum A tarif edilir. Her iki tipte yaklaşık olarak 12-13 μm çapındadır. Açık tip spermatogonyum A'ların (Ap) nukleusları ökromatiktir ve açık renkli olarak görülürler. Mitoz bölünmeler geçirerek hem yeni açık tip spermatogonyum A'ları hem de spermatogonyum B'leri oluştururlar. Koyu tip spermatogonyum A'ların (Ad) nukleusları ise heterokromatinden zengindir ve koyu renkli olarak görülürler. Bu hücreler mitoz bölünme geçirerek hem yeni Ad'leri hemde Ap'leri oluşturan ana hücrelerdir.

2.3.4.2. Spermatogonium B

Açık boyanan nukleusa sahip spermatogonyum A tipinden, bir dizi mitotik sikluslar boyunca farklılaşarak spermatogonyum B'ler oluşur. Yaklaşık olarak 12-13 μm çapındadır. Gelişen B tipi spermatogonyumlar, mitotik bölünmeler sonucunda primer spermatositeri oluşturacak yapıya kavuşurlar.

2.3.4.3. Primer Spermatositler

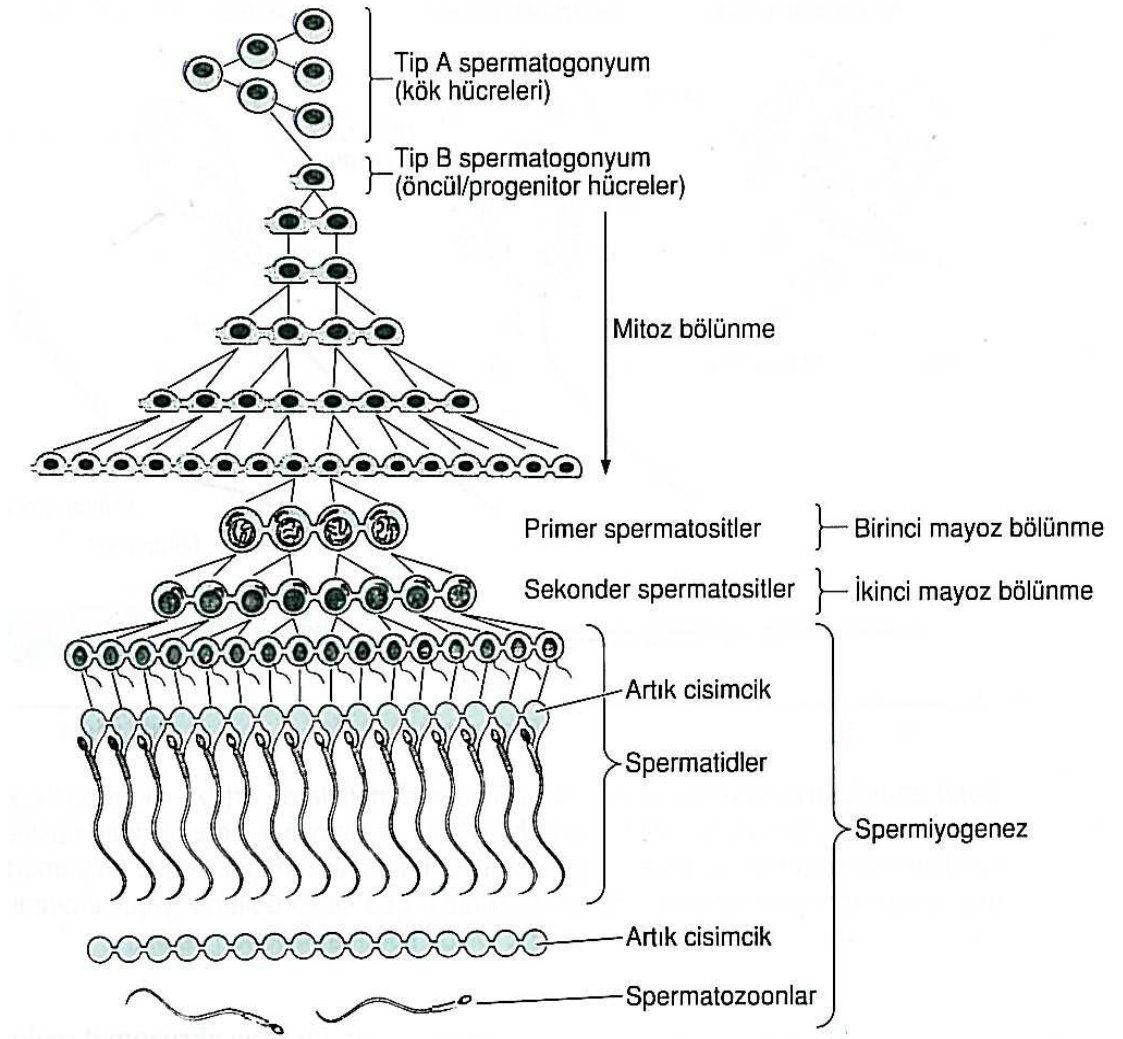
Primer spermatositler (Şekil 2-5), 46 kromozom (44+XY) ve 4N deoksiribonükleik asit (DNA) miktarına (1N, hücre başına yaklaşık olarak 1,5 pg DNA'ya eşdeğer) sahiptir. Mayoz bölünme işaretini alan, spermatogenik serinin en büyük hücreleri artık primer spermatosit olarak anılırlar. 2n kromozom sayılı primer spermatositler 1. mayoz bölünmenin yaklaşık 22 gün süren profaz aşamasına girerler. Histolojik kesitlerde görülen spermatositlerin çoğu, profaz yaklaşık 22 gün sürdüğünden dolayı bu aşamada gözlenirler. Profazın 4 alt evresi vardır.

Leptoten evresinde bazal laminadan ayrılan primer spermatositler lümene doğru hareket etmeye başlarlar. Zigoten evresinde homolog kromozomlar bir araya gelir ve primer spermatositler kan testis bariyerini aşarak adluminal kompartımana geçerler. Pakiten evresi en uzun evredir ve bu evrede spermatositler dış etkilere karşı çok hassastır. Ayrıca tetradlar oluşur. Diyakinez evresinde ise homolog kromozomlar arasında segment değişimi gerçekleşir. Sırasıyla, metafaz, anafaz ve telofaz evreleri ile 1. mayoz bölünme tamamlanır.

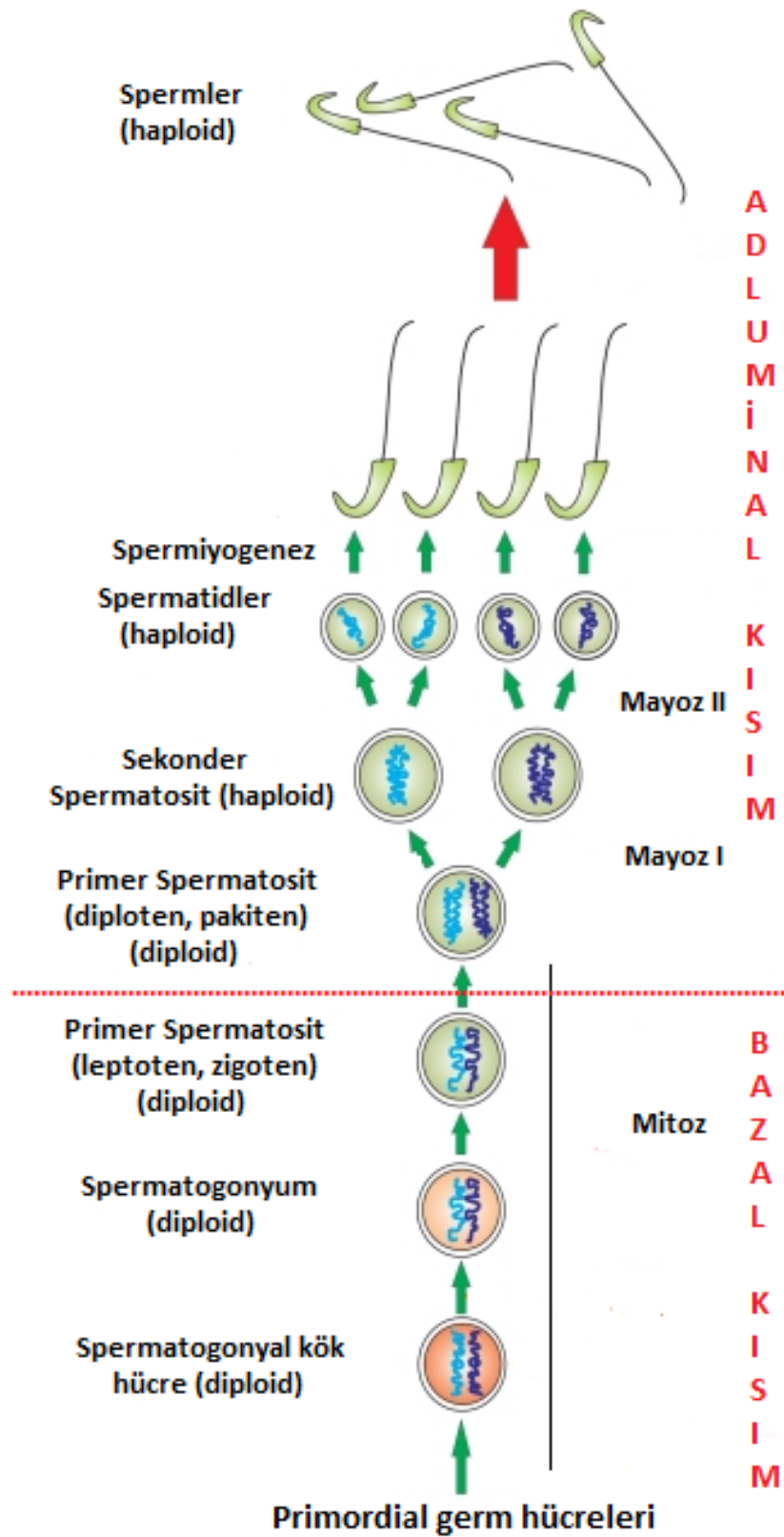
2.3.4.4. Sekonder Spermatositler

1. mayoz bölünme sonucu 2 adet n kromozom sayılı (22+X veya 22+Y) sekonder spermatosit (Şekil 2-5) oluşur. Kromozom sayısının azalmasıyla doğru orantılı

olarak DNA miktarında da yarı yarıya ($4N$ 'den $2N$ 'e) düşüş gerçekleşir. Histolojik kesitlerde sekonder spermatositlerin, interfazda çok az kalıp hemen ikinci mayoza giren kısa ömürlü hücreler olmalarından dolayı gözlenmeleri çok zordur. S fazını atlayarak, yani DNA replikasyonu olmadan, 2. mayoz bölünmeye giren sekonder spermatositler bölünmelerini tamamlayarak 4 adet spermatid oluşturur. Spermatidler herhangi bir hücre bölünmesi geçirmeden sperm şeklinde olgunlaşırlar. 2. mayoz bölünme sonunda oluşan haploid spermatidler küçük ve yuvarlaktır. Spermatogenezde, spermatogonyumlar genellikle gruplar halinde, birbirleri ile senkronize gelişimi sağlamak için, sitoplazmik bağlantılarını kaybetmeden olgunlaşırlar (1,17,32).



Şekil 2-5: Spermatogenez: Mitoz, mayoz ve spermiyogenez (31)



Şekil 2-6: Sıçanlarda spermatogenez: Mitoz, mayoz ve spermiyogenez (32)

2.3.5.Spermiyogenez

Spermiyogenez (Şekil 2-5, 2-6) çeşitli evrelere ayrılarak anlatılmakla birlikte sonuç olarak bir spermin nasıl geliştiğini izah eder. Sperm gelişimini anlatırken birçok olay eş zamanlı olmasına rağmen, spermin yapısal özelliği nedeni ile üç önemli unsurun gelişimini ayrı ayrı anlatmak daha anlaşılır olmaktadır. Bu anlatım düşüncesine göre üç bölgenin oluşumu ile ilgili değişimler ifade edilir.

1. Baş gelişimi
2. Boyun gelişimi
3. Kuyruk gelişimi

2.3.5.1. Baş Gelişimi

Sperm başının oluşumu sırasında esas olarak fekondasyon için gerekli olan yapıların gelişimi göz önünde bulundurulur. Bu aşamada Golgi aygıtında, nukleusta ve sitoplazma içerisinde bir takım değişiklikler görülür. Bu değişikliklerin en önemlileri;

1. Akrozomun gelişimi
2. Nukleusun yoğunlaşması
3. Sitoplazmanın kuyruk bölümüne doğru ağmasıdır.

2.3.5.1.1. Akrozomun Gelişimi

a) Golgi Evresi

Spermatid sitoplazması içerisinde, nukleus yakınında yer alan belirgin Golgi kompleksi, mitokondriler, bir çift sentriyol, serbest ribozomlar ve DER oldukça iyi gözlenir. DER’de üretilen hidrolitik enzimler Golgi kompleksinde değişime uğrar ve proakrozomal granüller olarak golgi tarafından paketlenirler. Proakrozomal granüller birikip birleşerek membranla sınırlı akrozomal vezikülün içinde yer alan tek bir akrozomal granül meydana getirirler.

b) Kep/Şapka evresi

Akrozomal vezikül, yoğunlaşmaya başlayan nukleusun ön yarısını kaplayacak şekilde yassılaşılarak nukleus zarına tutunmuş bir kep oluşturur. Bu arada sentriyol çifti, akrozomal vezikülün zıt kutbuna ilerler.

c) Akrozom oluşumu

Hücrenin uzadığı ve nukleusun yoğunlaştığı evredir. Mitokondriler çekirdeğin arka bölgesine doğru kaymaya başlar. Akrozom, çekirdeğin üçte birlik üst kısmını örter ve sarmaya devam eder. Akrozom içerisinde hyalüronidaz, nöraminidaz, asit fosfotaz ve etkisi tripsine benzeyen bir proteaz gibi hidrolitik enzimler bulunur. Akrozom, enzim içeriğinden dolayı lizozomun özelleşmiş bir tipi gibi iş görür. Akrozomal vesikülün membranı, sperm başının ön membranına çok yaklaşır ve ekvatoryal segment dediğimiz alt üçte birlik kısımda da sperm membranı ile özel bağlantılar kurar (Şekil 2-7). Döllenme sırasında, oositi saran korona radyata ve zona pellusidadan sperm girişini kolaylaştırmak için akrozomal enzimler salınır.

2.3.5.1.2. Nükleusun yoğunlaşması

Kromatin yoğunlaşması ile nukleusta hacimce azalma meydana gelir ve baş türe özgü bir şekil alır. Kromatin yoğunlaşması DNA paketlerinin sıkılaşması ile sağlanır. DNA paketlenmesi ise somatik histonlarla (H1, H2A, H2B ve H4) arjinin ve lizin zengin protaminlerin yer değiştirmesi ile gerçekleşir.

2.3.5.1.3. Sitoplazmanın ağması

Bir taraftan akrozom gelişirken ve nukleus sıkılaşırken diğer taraftan sitoplazma, kuyruğun oluşmakta olduğu yöne doğru sitoplazmada bulunan materyallerle birlikte ağmaktadır (Şekil 2-7). Bu olayın gerçekleştirilmesini kolaylaştırmak için bir nukleus çevresi halka ve bu halkaya tutunmuş mikrotübüllerden oluşan manşet gelişir. Bu arada mitokondriler de birbirleri ile birleşerek ve büyüyerek, manşet adı verilen protein yapılı, konik şekilde düzenlenmiş mikrotübül yapının yolak olarak gösterdiği yönde yani kuyruğun oluşma yönünde hareket ederler. Daha sonra mitokondriler kuyruğun orta parçasına yerleşirler. Sitoplazmanın aşağı ağan kısımları residual sitoplazma olarak adlandırılır ve aynı hücreden gelen sperm grupları, lümene atılana kadar birbirleri ile sitoplazmik köprücükler aracılığıyla bağlıdırlar (31, 33, 34).

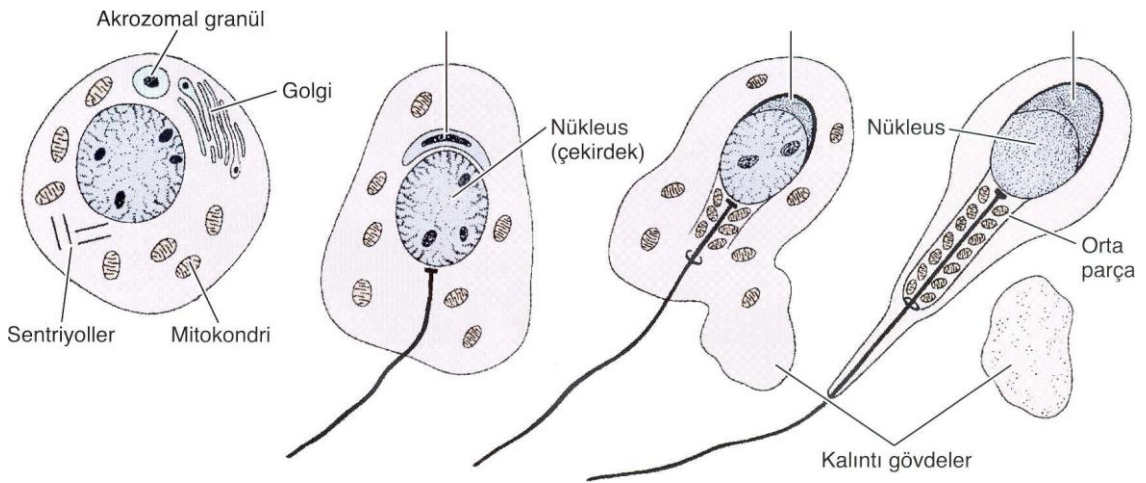
2.3.5.2. Boyun Oluşumu

Akrozomun gelişmesi esnasında sentriol çiftleri birbirinden uzaklaşarak biri proksimale diğeri de distale yerleşir. Distal sentriol, hücrenin uzun eksenine paralel

konumdadır ve aksonemi oluşturmak üzere ilk başlangıç proteinlerini üretir. Aynı zamanda boynun bağlayıcı parçasının oluşmasına da katkıda bulunur.

2.3.5.3. Kuyruk Oluşumu

Distal sentriol tarafından oluşumu başlatılan aksonema, dimerlerin eklenmesi ile gittikçe uzar. 9+2 mikrotübül dizilimine sahip bir yapı gösterir. Bu arada mitokondriler kuyruğun orta parçası bölgesinde annulus adı verilen son halka hizasına kadar sarmal bir yapı oluşturarak yerleşir. Aynı zamanda aksonema etrafında dış yoğun fibriller, aksonema bağlantılı olarak yerleşir ve en dış kısımda da fibröz bir kılıf oluşur. Fibröz kılıfın dış kısmını da hücre zarı sarar (17, 35,36)



Şekil 2-7: Spermiyogenez sırasında gerçekleşen değişimler (31).

2.4. Oksidatif Stres ve Antioksidanlar

Günümüzde, bazı hastalıkların önlenmesi veya tedavisi için doğal, kaliteli ve dengeli beslenmek oldukça önemli hale gelmiştir. Aldığımız besinler farklı oranlarda karbonhidrat, yağ, protein, mineral, vitamin ve gün geçtikçe popüler hale gelen antioksidan maddeleri içerirler. Kanseri, diyabet, kardiyovasküler hastalıklar, otoimmün hastalıklar, nörodejeneratif hastalıklar gibi birçok hastalıkta ve yaşlanmada serbest radikallerin rolü olduğunun anlaşılması medikal bir evrime yol açmıştır (37).

Harman'ın serbest radikal teorisine göre, canlıların yaşamları süresince etki altında kaldıkları reaktif oksijen türevleri (ROT), oksidatif hasara neden olabilir. Metabolik reaksiyonlar sonucu ROT oluşur. Yüksek derecede reaktif olmalarından dolayı hücrelere ciddi zararlı etkileri vardır (38).

Anaeroblar dışındaki yaşayan tüm sistemler için oksijen zorunludur (37). Aerobik hücrelerin kullandığı oksijenin yaklaşık %90'ı mitokondriler tarafından tüketilir ve mitokondrial solunum zinciri yolu ile devamlı olarak serbest oksijen radikalleri ve hidrojen peroksitler üretilir. Oluşan bu radikaller, lipid, protein ve DNA gibi biyolojik açıdan önemli yapılarda oksidatif hasara neden olabilir (39,40).

Canlı organizmalarda farklı şekillerde ROT meydana gelir. Normal aerobik solunum, polimorfonükler lökositleri, makrofajları ve peroksizomları stimüle eder, bundan dolayı da hücre tarafından üretilen ROT'un temel endojen kaynağı peroksizomlardır. Sigara dumanı, organik çözücüler, ultraviyole (UV) ışınları, radyasyon ve çevre kirliliği gibi etmenler ise serbest oksijen radikallerinin temel ekzogen kaynaklarıdır (41).

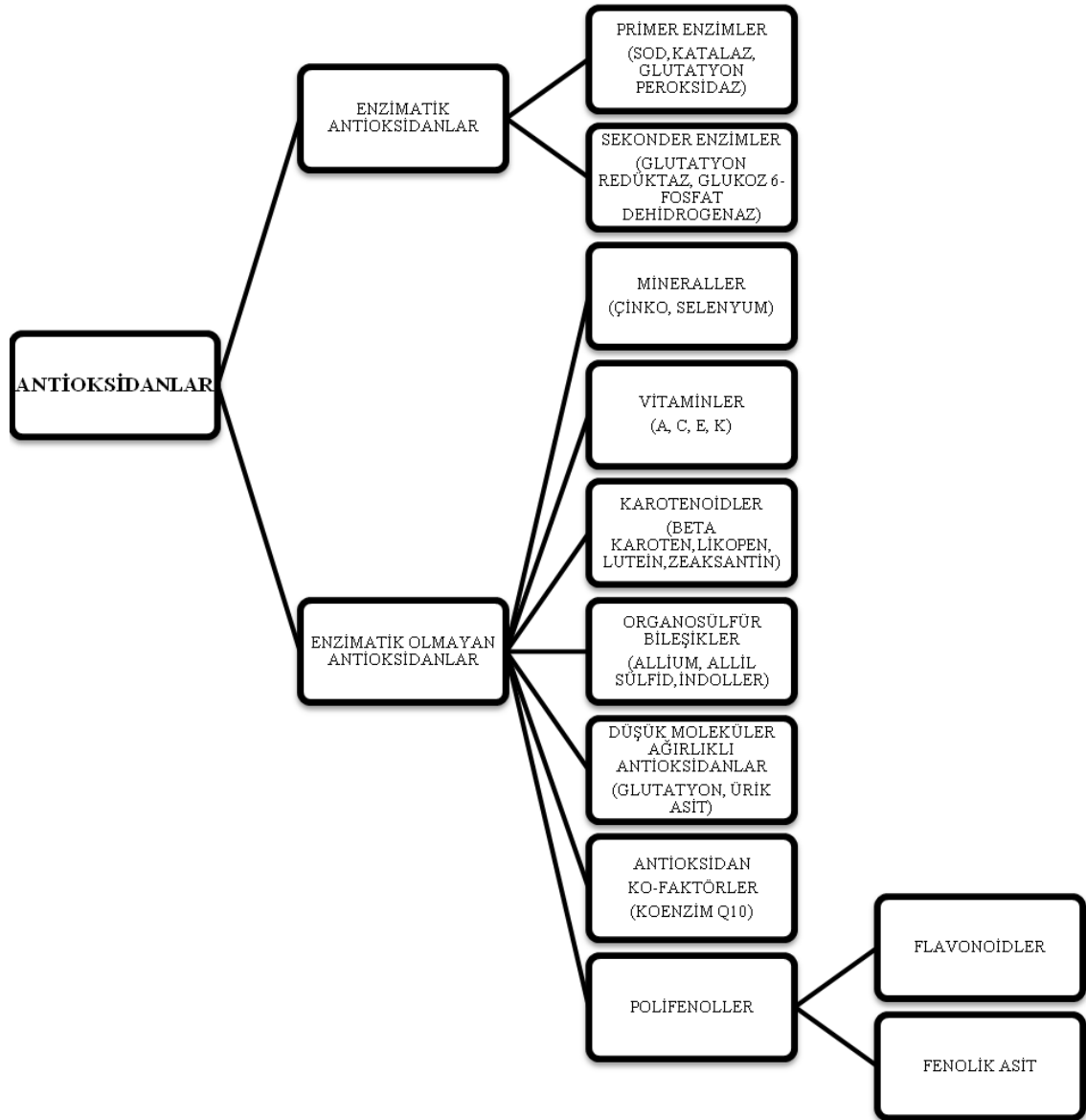
Organizmanın normal oksijen metabolizmasının toksik etkilerine karşı kendisini koruyabilmesi için çok sayıda savunma mekanizması bulunur. Oksidanlar ve savunma sistemi sistemi arasındaki denge oksidanların artışı yönünde bozulursa oksidatif stres meydana gelir (42).

Oksidatif stres hücrelerde ciddi metabolik fonksiyon bozukluğu, hücre bütünlüğünün kaybı, enzim fonksiyon kaybı ve genomik stabilite kaybı gibi hasarlar ile birçok hastalığın patogenezi (inflamasyon, ateroskleroz, artrit, kanser, Alzheimer, Parkinson vs.) yol açar. Oksidanların hasar tehdidine karşı biyolojik antioksidanlar yaygın hale gelmeye başlamıştır (43).

Vücudumuzda oluşabilecek serbest radikal hasarına karşı, çeşitli antioksidanlar vücudumuzdan sentezlenirken bazıları da bu serbest radikallerin hasarını frenlemeye yardım etmek için diyetle alınır. (37).

Antioksidanlar enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar olarak ikiye ayrılır (Şekil 2-8). Enzimatik antioksidanlar ise birinci derece ve ikinci derece olmak üzere kendi içlerinde ayrılırlar. Süperoksit dismutaz (SOD), katalaz, glutatyon peroksidaz (GSH-Px) birinci derece enzimatik antioksidanlar iken glutatyon redüktaz ve glukoz 6-fosfat dehidrogenaz (G6DP) ikinci derece antioksidanlardır. Enzimatik olmayan antioksidanlar ise genel olarak diyetle alınan antioksidanlardır. Bunlar mineraller (Se,Zn), vitaminler (A,C,E,K), karotenoidler (beta karoten, likopen,lutein,zeaksantin), organosülfür bileşikler (allium, alil sülfid, indoller), düşük moleküler ağırlıklı antioksidanlar (glutatyon, ürik asit), antioksidan ko-faktörler (koenzim Q10) ve polifenollerdir (37,44).

Ürik asit, vitamin E, glutatyon ve koenzim Q10 gibi bazı enzimatik olmayan antioksidanlar insan vücudunda sentezlenir ve ayrıca diyet ile de alınabilir. Polifenoller ise diyet ile alınan antioksidan grubudur (37,44).



Şekil 2-8: Antioksidanların sınıflandırılması (37).

2.5. Sigara

Sigara (Şekil 2-9), halk sağlığını tehdit eden en büyük etmenlerden biridir. İstatistiklere göre yaklaşık 5 milyonu aktif içici ve yaklaşık 600 bini pasif içici olmak üzere yılda yaklaşık 6 milyon kişinin ölümüne neden olmaktadır. Dünya çapında yaklaşık 1 milyar insan sigara içmektedir ve bunun yaklaşık %80'i az gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde yaşamaktadır. 20.yüzyılda yaklaşık 100 milyon kişinin ölümüne neden olan sigaranın, eğer bu şekilde devam ederse 21. yüzyılda da 1 milyar kişinin ölümüne neden olacağı tahmin edilmektedir (45).



Şekil 2-9: Sigara

Sigara dumanı; aromatik hidrokarbonlar, aromatik aminler, aseton, kadmiyum ve nikotin gibi yaklaşık dört bin toksik bileşenden oluşur. Tüm bileşenler farklı özelliklere sahiptir ve organizmadaki tüm sistemleri olumsuz yönde etkilemektedirler (46,47). Ayrıca akciğer, larinks, orofarinks, böbrek, testis ve meme kanserine neden olduğuna dair çalışmalar mevcuttur (47) Testis dokusu, kan damarlarından oldukça zengin bir dokudur. Bu sebeple sigara içerisinde bulunan ve kan ile taşınan toksik maddeler, testis dokusunda oksidan ve antioksidan arasındaki dengeyi, oksidanların artışı yönünde, bozar. Böylece doku içerisinde artan serbest oksijen radikalleri testiküler hasara neden olur(4,47). Ayrıca ROT miktarının artması sperm DNA'sında hasara neden olur (48).

Sigara kullanımının, sperm sayısında ve motilitesinde azalma, morfolojik olarak anormal sperm yüzdesinde ve sperm kromatin hasarında artış gibi erkek üreme sistemi üzerinde zararlı etkileri vardır. Sigara dumanı oksidatif strese neden olur ve testis dokusunda lipid peroksidasyonun belirteci olan malondialdehit (MDA) seviyesinde

artışa, glutatyon seviyesinde ve glutatyon peroksidaz aktivitesinde ise azalmaya neden olur. Ayrıca sigara dumanının aktif ve pasif içicilere olan etkilerine baēlı olarak Leydig hücre sayısında azalma ve hasarlanmanın yanı sıra germ hücre sayısında ve seminifer tübül çapında da düşüş gözlenir. Testiküler hücreler ve sperm, plazma membranında çok sayıda doymamış yağ asidi bulundurduğundan serbest radikallerin oluşturduğu oksidatif strese karşı oldukça duyarlıdırlar. Hücre membranının lipid peroksidasyonu, hücrede fonksiyon bozukluğu ve yapısal hasar olarak sonuçlanabilir. Yani sigara dumanının etkilerinden dolayı kaynaklanan lipid peroksidasyonu anormal spermatogeneze neden olur (49).

2.6. Kurkumin

Birçok bitkinin köklerinden veya yumrularından elde edilen bitkisel kimyasallar günümüzde alternatif ve tamamlayıcı tıpta oldukça yaygın kullanılan ürünlerdir. Turmerik, Zerdeçal veya Latince ismi ile *Curcuma longa* (Şekil 2-11); Zingiberaceae ailesine ait, çok yıllık, boyu 1 metre kadar uzayabilen kısa köklü otsu bir bitkidir. Hindistan ve Çin başta olmak üzere genel olarak Asya ülkelerinde yetişir. Bu bitkinin kökünden elde edilen sarı renkli toz Türkiye'de turmerik veya zerdeçal olarak, Hindistan'da ise turmerik, haridra veya haldi olarak adlandırılır. Rizomlarının boyu eninden uzun, oval, armut biçimli olup genelde kısa dallara sahiptirler. Turmerik veya diğer ismi ile zerdeçal sadece sağlık için değil, gıda maddelerinin korunması, tatlandırılması için ve gıda maddelerinin yanısıra tekstilde de sarı renkli bir boya maddesi olarak kullanılan bir bitkidir (10,11,50,51,52).

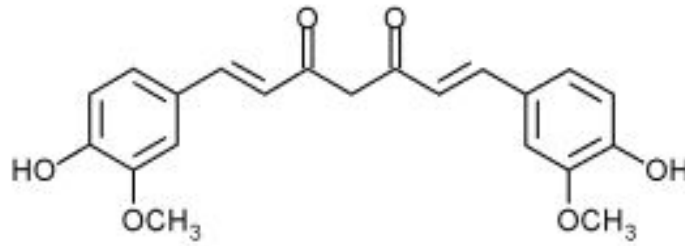
Turmeriğe rengini veren ana kısım 1842 yılında Vogel tarafından izole edilmiştir ve kurkumin olarak adlandırılmıştır. (50,53) Kimyasal yapısı ($C_{21}H_{20}O_6$) Lompe ve Milobedeska tarafından 1910 yılında tanımlanmıştır (54). Kimyasal yapısının açılımı (Şekil 2-10) ise 1973 yılında Roughley ve Whiting tarafından gösterilmiştir (50,55). Kurkumin [1,7-bis(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-1,6-heptadine-3,5-dione]; suda ve eterde çözünmez iken etanolde, dimetilsülfoksitte (DMSO), asetik asitte ve diğer organik çözücülerde çözünebilir bir bileşiktir (11,50,53). Ticari kurkuminde yani zerdeçalda, kurkuminoidler olarak adlandırılan üç bileşen mevcuttur. Bunlar; kurkumin (77%), dimetoksikurkumin (17%) ve bis-dimetoksikurkumindir (3%) (11,50,56). Kurkuminin erime noktası $183^{\circ}C$ ve moleküler ağırlığı 368,37'dir (11,53). Kurkumin geniş çapta farmakolojik ve biyolojik aktiviteye sahiptir (11,57).

Kurkuminin antioksidan (57,58,56), antikanser (11,59,60,61), antiinflamatuvar (62) ve antiseptik (59) özelliğe sahip olduğunu gösteren birçok çalışma mevcuttur. Ayrıca bu aktiviteleri hem hücre kültüründe hemde hayvan modellerinde birçok çalışmayla gösterilmiştir (53).

Kurkuminin antioksidan özelliği, alkol, ilaç, radyasyon ve ağır metaller gibi zararlı etmenlere maruziyet sonucu oluşan hasarı önlediğini gösteren çalışmalarla kanıtlanmıştır (63,64,65). Çünkü iyi bir serbest radikal temizleyicisi ve hidrojen donörüdür. Özellikle demir ve bakır gibi metallere bağlanır ve demir kıskacı gibi bir

fonksiyon gösterir. Kurkumin fazla toksik bir madde değildir ve limitli biyoyaralılık gösterir (53).

Kurkumin, tümör hücrelerinin bölünmesini durdurduğu ve bazı kanser tiplerine ait hücrelerin ölüm hızını artırdığı için antikanser özelliğe sahip bir bileşiktir. Ayrıca kurkuminin meme bezleri, deri, mide, kolon, akciğer, prostat ve karaciğer için antikanser bir ajan olarak tümör oluşumunu baskıladığı gösterilmiştir (66,67,68,69,70,71,72,73,74,63).



Şekil 2-10: Kurkuminin kimyasal yapısı (50,55)



Şekil 2-11:Curcuma Longa bitkisi ve rizomları (75)

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma için İstanbul Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu'ndan 29.12.2011 tarihli ve 2011/169 sayılı onay alınmıştır ve tüm çalışmalar Etik Kurul ilkelerine uygun olarak gerçekleştirilmiştir.

Bu çalışma, T.C. İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'nda 17.10.2011-24.06.2013 tarihleri arasında yürütülmüştür. Çalışmada İstanbul Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü'nden temin edilen 32 adet, ağırlıkları 150-200 gr arasında değişen, 1,5-2 aylık, erkek Wistar Albino sıçanlar kullanılmıştır. Deney hayvanları İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Araştırma Laboratuvarında standart şartlar altında muhafaza edilmiştir. Tüm hayvanlar, içerisinde %21 protein bulunan pellet yemler ve şebeke suyu ile serbest olarak beslenmiştir. Bir haftalık adaptasyon süreci tamamlandıktan sonra hayvanlar 8'erli 4 gruba ayrılmıştır.

3.1. GEREÇLER

3.1.1. Alet ve techizat

- 5 numaralı ince uçlu pens
- 7 numaralı ince uçlu pens
- Makler kamarası (Sefi Medikal)
- Poly-lyzinli lam (Histobond)
- 1-10 µl'lik mikropipet (Brand)
- 10-100 µl'lik mikropipet (Eppendorf)
- 100-1000 µl'lik mikropipet (Brand)

3.1.2. Kimyasal malzemeler

- Apoptag Plus Peroxidase Kit (Millipore)
- Kurkumin (Santa cruz)
- Dimetilsülfoksit (Sigma)
- Gluteraldehit (Merck)
- Osmium tetroxide (Merck)
- Diff Quik boya seti (GBL)

Hematoksilen-Eozin boya seti
 Entellan (Merck)
 Hidrojen Peroksit (Merck)
 Alkol serileri (70°, 80°, 90°, 96°, 100°) (Merck)
 Toluen (Merck)
 Ksilen (Merck)
 Formol (Merck)
 Fosfatla tamponlanmış tuz solüsyonu (PBS)
 Dimetilsülfoksit (DMSO)

3.1.2. Cihazlar

Buz dolabı (Arçelik)
 Takip cihazı (Thermo Scientific Microm STP120)
 Su banyosu (Fisher Scientific)
 Isıtmalı Santrifüj cihazı (Eppendorf)
 pH metre (Inolab wtw)
 Hassas terazi (Sartorius)
 Manyetik karıştırıcı (IKA Rct Basic)
 Etüv (Heraeus)
 Mikrotom (Thermo Scientific Microm hm430)
 Ultramikrotom (Reichert UM2 - Reichert UM3)
 Mikrodalga fırın (Arçelik)
 Işık mikroskobu (Olympus BX61)
 Elektron mikroskobu (Jeol Jem-1011)

3.2. DENEY GRUPLARI

- 1. Kontrol grubu:** 8 hayvana, 28 gün boyunca, gavaj yoluyla 1ml/kg DMSO verildi. Gavaj yoluyla letal tek dozu 16-28,3 gr/kg ve letal tekrarlanan dozu 10x11 gr/kg kabul edilen DMSO'dan, günlük doz 1 gr/kg (sıçan ağırlığına göre 0,15-0,2 gr) olmak üzere 28 günde toplam 4,2-5,6 gram civarında DMSO gavaj yoluyla uygulandı (15).

2. **Sigara grubu:** 8 hayvana, 28 gün boyunca, gavaj yoluyla 1ml/kg DMSO verildi ve bu gruptaki hayvanlar günde 2 saat saatte 1 adet sigara dumanı (75x50x50 plastik kabin içerisinde) etkisi altında bırakıldı.
3. **Kurkumin grubu:** 8 hayvana, 28 gün boyunca günde 100 mg/kg kurkumin antioksidanı 1 ml/kg DMSO'da çözünerek gavaj yolu ile verildi.
4. **Kurkumin + Sigara grubu:** 8 hayvana, 28 gün boyunca 100 mg/kg kurkumin antioksidanı 1ml/kg DMSO'da çözünerek gavaj yolu ile verildi ve bu gruptaki hayvanlar günde 2 saat boyunca saatte 1 adet sigara dumanı (75x50x50 plastik kabin içerisinde) etkisi altında bırakıldı.

28. günün sonunda hayvanların ağırlıkları ölçüldü. Hayvanlar sakrifiye edilerek öncelikle kaudal epididimden sperm örnekleri alındı. Sonrasında sağ ve sol testisler çıkarıldı.

3.3. Işık Mikroskopik Yöntemler

3.3.1. Histokimyal yöntemler

Sıçanların sol testis dokuları ışık mikroskopik incelemeler için alındı. İnsulin iğnesi yardımıyla testislerin her iki kutbunda fiksatifin tunika albugineayı kolay geçebilmesi için 5'er adet delik açıldı. Fiksator olarak modifiye Davidson çözeltisi (%30 formol (%37'lik), %15 etanol, %5 glacial asetik asit, %50 distile su) kullanıldı. 24 saatlik fiksasyondan sonra ikinci bir fiksator olarak nötral tamponlanmış formol kullanıldı. Dokular fiske edildikten sonra 3 kere %96 alkol ve 3 kere asetondan geçirilerek dehidratasyon işlemi gerçekleştirildi. Ardından 2 kere ksilol ile doyurularak parafin içerisinde bekletildi ve gömme işlemi gerçekleştirildi. Mikrotom ile 5µ kalınlığında kesitler alındı. Işık mikroskopik incelemeler için doku kesitlerine Hematoksilen + Eozin (H + E) boyası yapıldı.

3.3.1.1. Hematoksilen + Eozin

Hematoksilen + Eozin boyası için alınan kesitler 1 gece boyunca 56°C'lik etüvde bekletildi. Ertesi gün toluol yardımı ile kesitler üzerindeki parafin uzaklaştırıldı. Kesitler, azalan alkol serisinden (100°, 96°, 90°, 70°) geçirildi ve saf suya alındı. Ardından Hematoksilen'de 17 dakika bekletilerek hücre nükleusları boyandı. Çeşme suyunda 10 dakika morartma yapıldı ve %1'lik asit alkolde çabucak çalkalanıp tekrar çeşme suyunda 10 dakika morartma yapıldı. %1'lik lityum karbonat çözeltisi içerisinde

1 dakika mavileştirme yapıldı. Ardından sitoplazmayı boyamak için kesitler 2 dakika eozin boyasında bekletildi. Artan alkol serisinden (70°, 90°, 96°, 100°) geçirilen kesitler toluolde ikişer kez 15'er dakika bekletildikten sonra entellan ile kapatıldı.

3.3.1.2. Apoptotik Hücre Tayini

Apoptotik hücre tayini için in situ DNA uç işaretleme yöntemi (TUNEL Yöntemi) kullanıldı.

3.3.1.2.1. TUNEL Prosedürü

1. Parafin bloklardan 5µ kalınlığında kesitler alındı 56°C'lik etüvde bir gece bekletildi.

2. Etüvden çıkarılan kesitler 10 dakika oda sıcaklığında bekletildikten sonra parafini uzaklaştırmak için 3x10 dakika toluolde bekletildi.

3. Sırasıyla 2x5 dakika 100° alkolde, 1x5 dakika 96° alkolde, 1x5 dakika 70° alkolde ve son olarak 1x5 dakika fosfatla tamponlanmış tuz solüsyonu (PBS) içinde bekletildi.

4. Proteinlerin sindirilmesi amacıyla kesitlerin üzerine Proteinaz K (20µg/ml) damlatıldı ve 15 dakika sonra distile su ile 2x2 dakika çalkalandı.

5. Endojen peroksidaz aktivitesinin giderilmesi amacıyla kesitler, içinde %3'lük hidrojen peroksit (H₂O₂) bulunan şalede 5 dakika bekletildi.

6. Kesitler PBS ile 2x5 dakika yıkandı ve dokuların etrafı dikkatlice kurularak hidrofobik kalem ile sınırlandırıldı.

7. Dokuların her birinin üzerine kite ait dengeleyici tampondan (buffering tampon) 50 µl damlatıldı ve üzerlerine plastik lameller konarak oda sıcaklığında 30 dakika bekletildi.

8. Plastik lameller kaldırıldı, dokuların etrafı dikkatlice kurulandı ve kesitlerin üzerine TDT enzimi damlatıldı. Tekrardan plastik lameller ile kapatılıp nemli ortamda 37°C'lik etüvde 1 saat inkübe edildi.

9. Plastik lameller kaldırılıp, dokuların etrafı dikkatlice kurulandı ve dokuların üzerine 50µl kite ait durdurma-yıkama tamponu damlatıldı. 10 dakika oda sıcaklığında bekletildi.

10. Kesitler PBS ile 3x5 dakika yıkandı ve kesitlere 50 µl kite ait Anti-Digoksin-Peroksidaz damlatıldı. Oda sıcaklığında 30 dakika bekletildi.

11. Kesitler PBS ile 3x5 dakika yıkandı. Üzerlerine 50 µl kite ait DAB substrat solüsyonu damlatıldı. Mikroskop altında pozitif renk reaksiyonu 4. dakikada gözlemlendi ve kesitler distile suya alınarak reaksiyon durduruldu.

12. Kesitler 2x2 dakika distile suda yıkandı ve zıt boya olarak metil yeşili kullanıldı (40 sn). %96 ve %100 alkolden hızlıca geçirilen kesitler toluol içerisinde alındı ve ardından entellan ile kapatıldı.

3.3.2. Morfolojik Olarak Spermin İncelenmesi

Sakrifikasyondan hemen sonra sağ testis ile birlikte çıkarılan kaudal epididim 1 ml %10 Fetal Bovine Serum ile hazırlanmış DMEM F12 (Dulbecco's Modified Eagle Medium Nutrient Mixture F-12) besiyeri içerisinde alındı ve makas yardımıyla çok küçük parçalara ayrıldı. Bir damla çözeltiden alınarak lam üzerine damlatıldı ve lam üzerine yayma yapıldı. Yayma preparat Diff-Quik boyası ile boyandı ve her bir preparat için 200 sperm değerlendirildi. Başsız kuyruk, kırık boyun, kırık kuyruk, kıvrık kuyruk, kuyrukuz baş, toplu iğne başı olarak 6 sperm anomalisi incelendi (76, 77, 78).

3.3.3. Sperm Sayımı

Sakrifikasyondan hemen sonra sol testis ile birlikte çıkarılan kaudal epididim 1 ml %10 Fetal Bovine Serum ile hazırlanmış DMEM F12 besiyeri içerisinde alındı ve makas yardımıyla çok küçük parçalara ayrıldı. Her kaudal epididim için eşit sayıda (70 kesim) küçültme yapıldı. Ependorf içerisinde alınan bu çözelti 800 g'de (2230 rpm) 3 dakika boyunca santrifüj edildi (79). Pellet ile süpernatant arasında spermlerin bulunduğu kısımdan 100 µl sıvı alınır ve tekrar ependorfa konup santrifüj yapıldı. Toplam 100 µl sıvı içerisinde süpernatant hesaplanarak atıldı. Tekrar santrifüj yapılarak besiyeri tamamen uzaklaştırıldı. Ependorf içerisinde kalan pellet miktarı kadar tekrar besiyeri eklenerek 1:1 oranında seyreltme yapıldı ve karıştırıldı. Seyreltilmiş çözeltiden 10 µl alınıp Makler kamerasında sayım yapıldı ve bulunan sayı 2×10^6 ile çarpıldı (80,81).

3.4. İstatistiksel yöntemler

Tüm gruplardaki hayvanların apoptotik hücre sayıları, sperm sayıları ve morfolojik anomaliye sahip sperm sayılarının istatistiksel olarak değerlendirilmesinde gruplar arasındaki karşılaştırma için One Way ANOVA testi kullanıldı. $p < 0,05$ anlamlı olarak kabul edildi. İstatistiksel analiz Sigma Plot 11.0 programı ile yapıldı. Vücut

ağırlıklarının istatistiksel analizinde SPSS programı kullanıldı. İkili gruplar halinde karşılaştırılmasında Bonferroni düzeltmesi yapılarak istatistiksel fark, $p < 0,008$ ($0,05/6 = 0,008$) düzeyine göre değerlendirildi.

3.5. Ultrastrüktürel Yöntemler

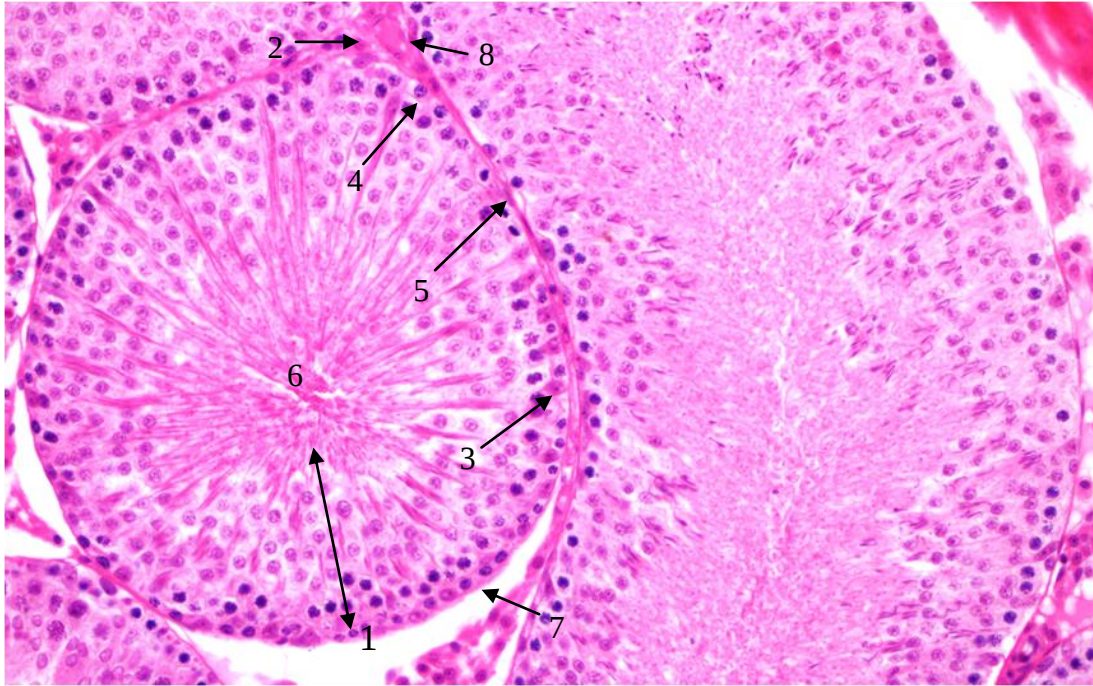
Geçirimli elektron mikroskobu incelemeleri için sıçanların sağ testis dokuları alındı. İnsulin iğnesi yardımıyla testislerin her iki kutbunda fiksatifin tunika albugineayı kolay geçebilmesi için 5'er adet delik açıldı ve dokular Millonig tamponlu %2,5'lük soğuk gluteraldehit solüsyonu içerisine kondu. Ardından $+4^{\circ}\text{C}$ 'de 2-4 saat tespit edildi. Sertleşen dokular, temizlenmiş jilet yardımı ile 1mm^3 'lük parçalar halinde getirildi. Dokular Millonig tamponu ile yıkandı ve 1,5 saat aynı tampon ile hazırlanmış %1'lik Osmiyum tetraoksit (OsO_4) ile ikinci tespit yapıldı. 3x15 dakika Millonig tamponu ile yıkanan dokular dehidratasyon için 10'ar dakika %30, %50, %70, %80, %96'lık alkollerden, 2x20 dakika %100 alkolden geçirildi. Dokular 2x15 dakika propilen oksitte bekletildi. Ardından sırasıyla 1:1 oranında propilen oksit- araldit karışımında 1 saat, 1:3 oranında propilen oksit- araldit karışımında 1saat ve saf aralditte 1gece bekletildikten sonra yuvarlak plastik kalıplara dökülmüş saf araldit içerisine gömüldü. Kalıplar 24 saat boyunca 45°C 'lik etüvde, 48 saat boyunca 60°C 'lik etüvde bırakılarak blokların polimerizasyonu sağlandı. Araldit bloklardan, önce Reichert UM2 mikrotomla $0,5\ \mu$ kalınlığında yarı ince kesitler alındı, toluidin mavisi ile boyanarak istenilen bölge tespit edildi. Reichert UM3 mikrotomla da 40-50 nm kalınlığında ince kesitler alındı ve bakır grid üzerine yapıştırıldı. Gridlerdeki kesitler %70 etanol ile hazırlanmış doymuş uranil asetat solüsyonu ile 30 dakika ardından Reynol'un kurşun sitratı ile 15 dakika boyandı. Jeol Jem-1011 model elektron mikroskobunda incelen kesitlerin fotoğrafları Olympus Veleta TEM CCD kamera ile çekildi.

4. BULGULAR

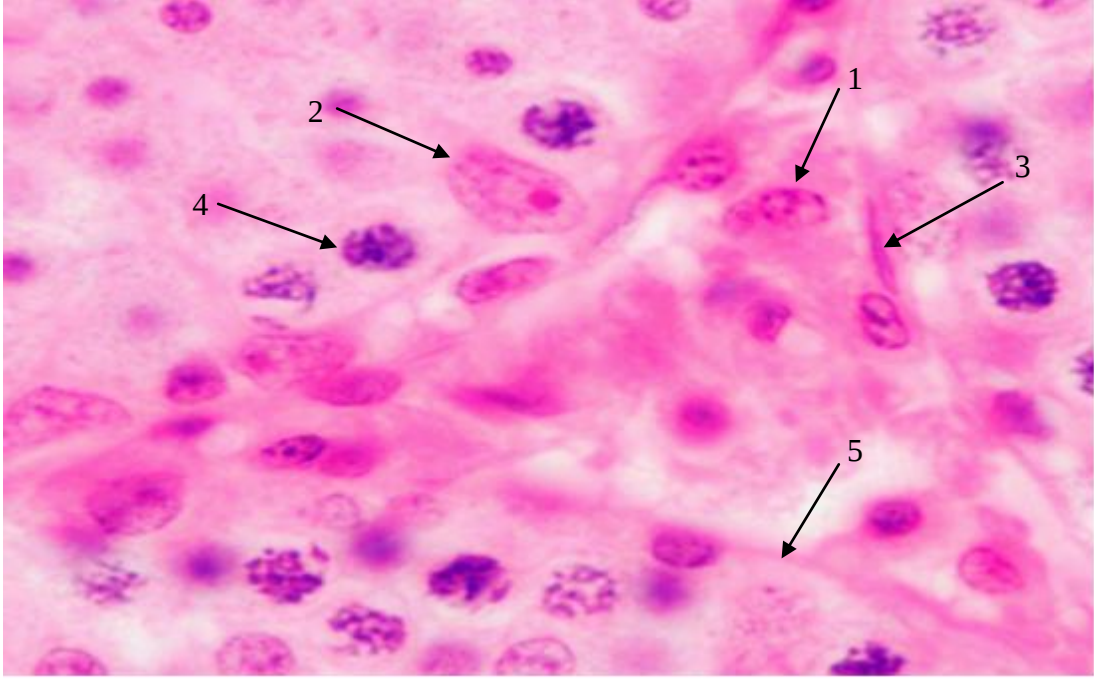
4.1. Işık mikroskopi bulguları

4.1.1.Histokimyasal Bulgular

Kontrol ve deney gruplarına ait tüm testis dokuları Hematoksilen-Eozin boyası ile boyandı. Kontrol grubunda bazal laminadan seminifer tübül lümenine doğru uzanan Sertoli hücreleri, spermatogenik seriye ait spermatogonyumlar, spermatositler ve spermatidler dağılmamış ve sıralı bir biçimde gözlemlendi. İnterstisyel alan ve burada yer alan Leydig hücreleri ile kan ve lenf damarlarının normal bir yapıda olduğu gözlemlendi ve herhangi bir patolojik bulguya rastlanmadı (Şekil 4-1, 4-2).

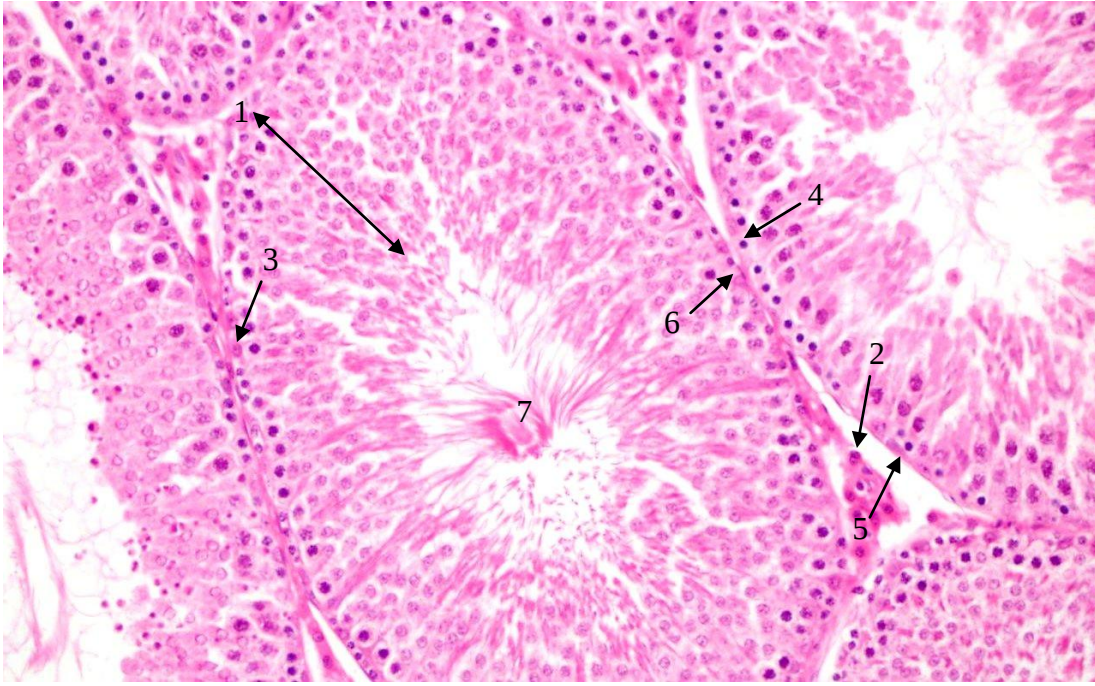


Şekil 4-1: Kontrol grubuna ait testis kesitinde normal seminifer tübül epiteli (1), Leydig hücresi (2), Sertoli hücresi (3), spermatogonyum (4), myeloid hücre (5), lümen (6), bazal membran (7), kan damarı (8), H+E x20.

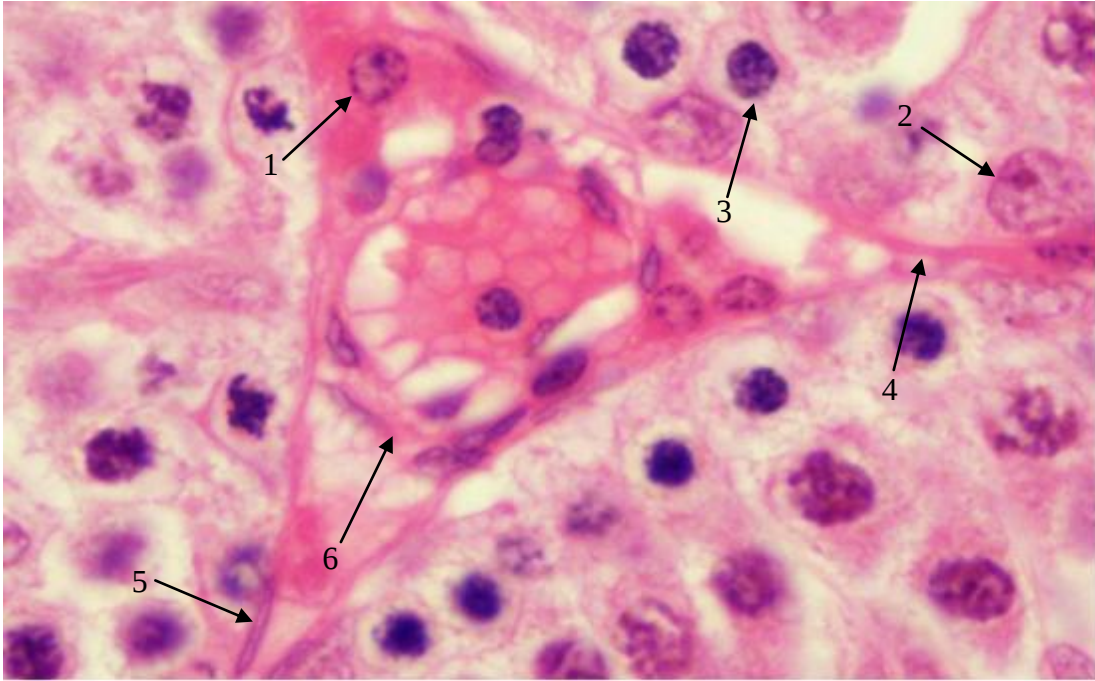


Şekil 4-2: Kontrol grubuna ait testis dokusu kesitinde Leydig hücresi (1), Sertoli hücresi (2), myeloid hücre (3), spermatogonyum (4), bazal membran (5), H+E x 100

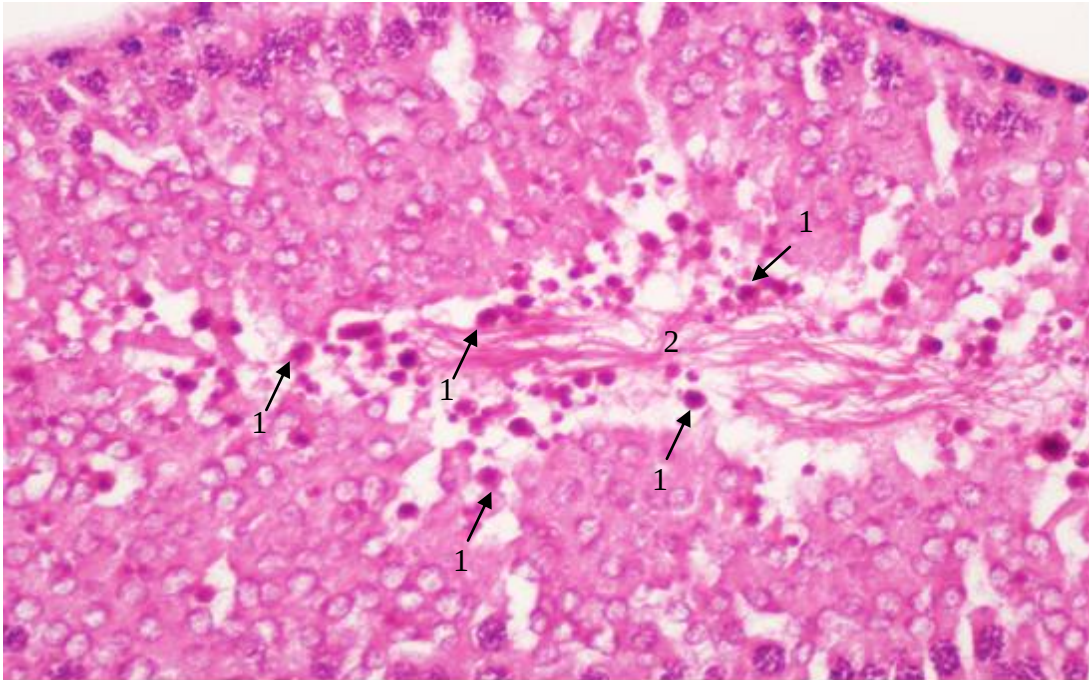
Sadece sigara inhalasyonu uygulanan grupta seminifer tübüllerde dejenerasyona rastlandı. Bu grubun seminifer tübül duvarı daha ince olarak gözlemlendi. Seminifer tübül duvarında hem bazal hemde apikal kompartmanlarda hücreler arasında yer yer boşluklara rastlandı. Ayrıca bazı spermatogonyumların nukleuslarında şekil bozuklukları gözlemlendi ve bu tip hücrelerin yuvarlaklığını kaybettiği görüldü. (Şekil 4-3, 4-4). Kontrol grubuyla kıyaslandığında lümeninde olgunlaşmamış hücreler bulunan tübüller daha fazlaydı (Şekil 4-5).



Şekil 4-3: Sadece sigara inhalasyonu uygulanan gruba ait testis kesitinde seminifer tübül epiteli (1), Leydig hücresi (2), Sertoli hücresi (3), spermatogonyum (4), bazal membran (5), myeloid hücre (6), lümen (7), H+E x 20

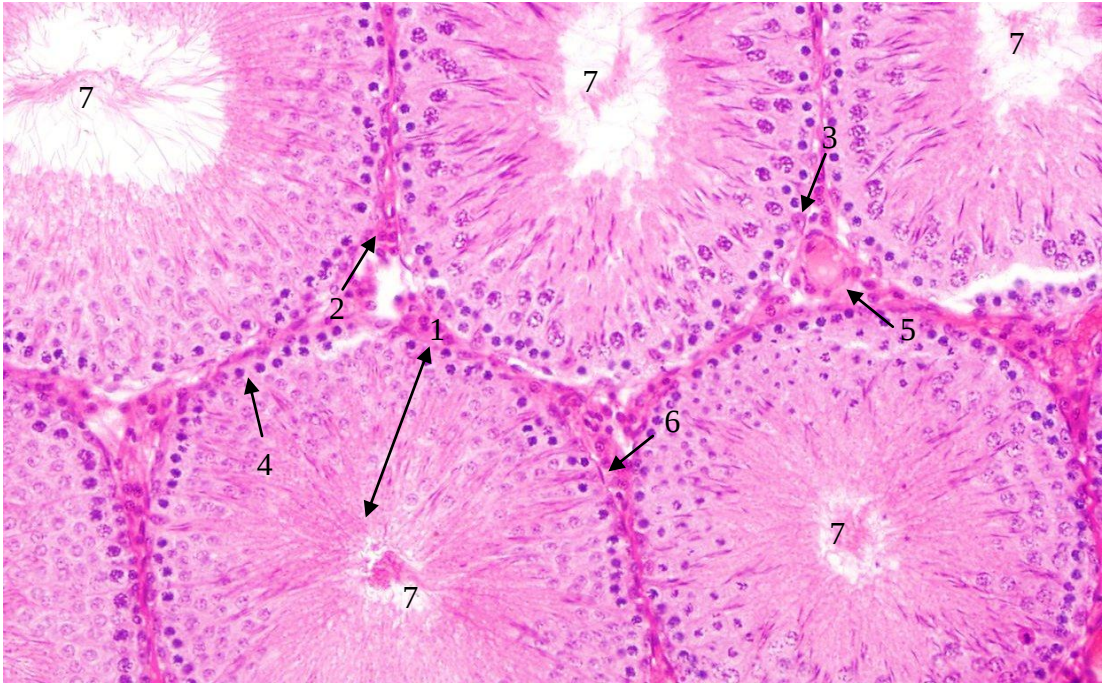


Şekil 4-4: Sadece sigara inhalasyonu uygulanan gruba ait testis kesitinde Leydig hücresi (1), Sertoli hücresi (2), spermatogonyum (3), bazal membran (4), myeloid hücre (5), kan damarı (6), H+E x 100.

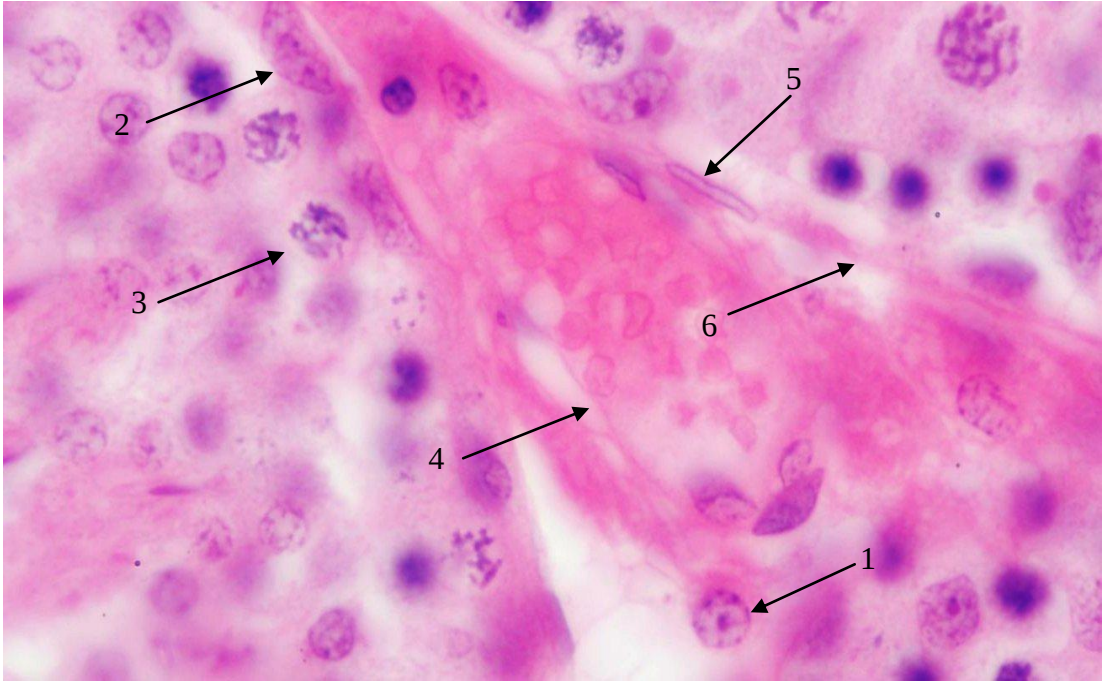


Şekil 4-5: Sadece sigara inhalasyonu uygulanan gruba ait testis kesitinde lümene atılmış olgunlaşmamış spermatidler (1), lümen (2), H+E x 40.

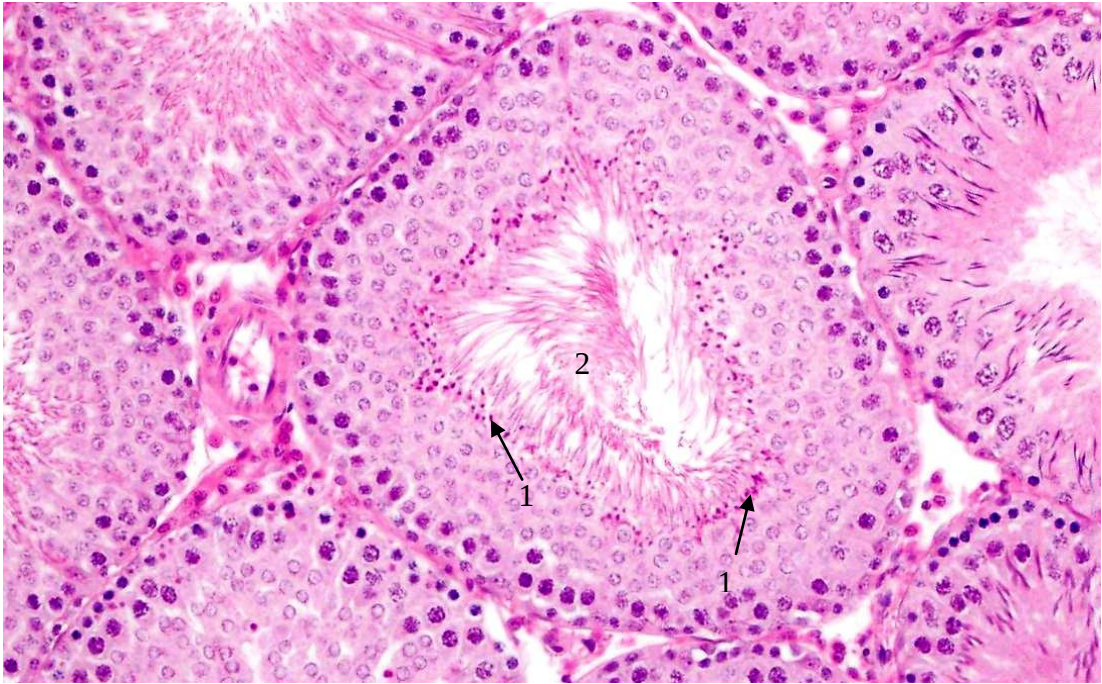
Kurkumin verilen grupta, kontrol grubundan farklı herhangi bir bulguya rastlanmadı. Seminifer tübül epitelinin oluşturan spermatogenik hücrelerin kontrol grubundaki gibi sıralı bir şekilde yerleşim gösterdiği gözlemlendi. İnterstisyel alanın ve burada yer alan Leydig hücrelerinin, kan ve lenf damarlarının normal morfolojiye sahip olduğu gözlemlendi (Şekil 4-6, 4-7). Bazı tübüllerin lümeninde kontrole göre daha fazla olgunlaşmamış hücrelere rastlandı (Şekil 4-8).



Şekil 4-6: Kurkumin uygulanan gruba ait testis kesitinde seminifer tübül epiteli (1), Leydig hücresi (2), Sertoli hücresi (3), spermatogonyum (4), kan damarı (5), myeloid hücre (6), lümen (7), H+E x 20.

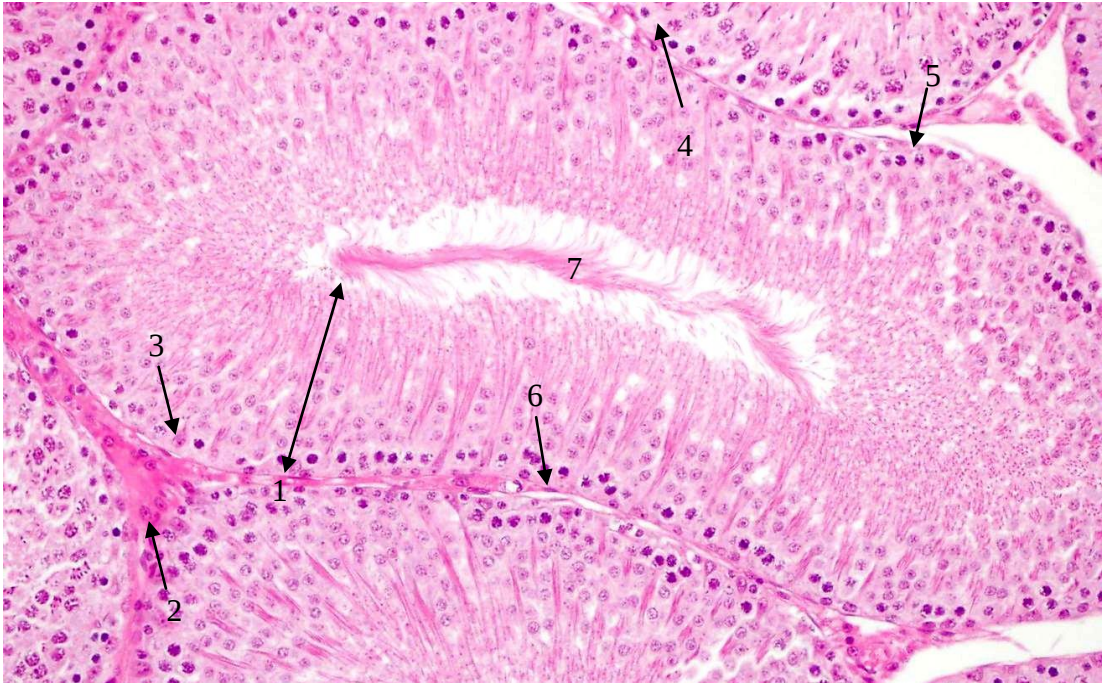


Şekil 4-7: Kurkumin uygulanan gruba ait testis kesitinde Leydig hücresi (1), Sertoli hücresi (2), spermatogonyum (3), kan damarı (4), myeloid hücre (5), bazal membran (6), H+E x 100.



Şekil 4-8: Kurkumin grubuna ait testis kesitinde lümene atılmış olgunlaşmamış spermatidler (1), lümen (2), H+E x 20.

Sigara inhalasyonu ile birlikte kurkumin verilen grubun kontrole daha yakın bir histoloji gösterdiği görüldü. Seminifer tübül epitelini oluşturan spermatogenik hücre yapısı ve seminifer tübül yapısı kontrol grubuna benzer gözlemlendi. Sigara grubundaki kadar olmasa da spermatogenik hücreler arasında yer yer boşluklara rastlandı. İnterstisyel alan ve Leydig hücrelerinde kontrolden farklı bir durum görülmedi (Şekil 4-9, 4-10).

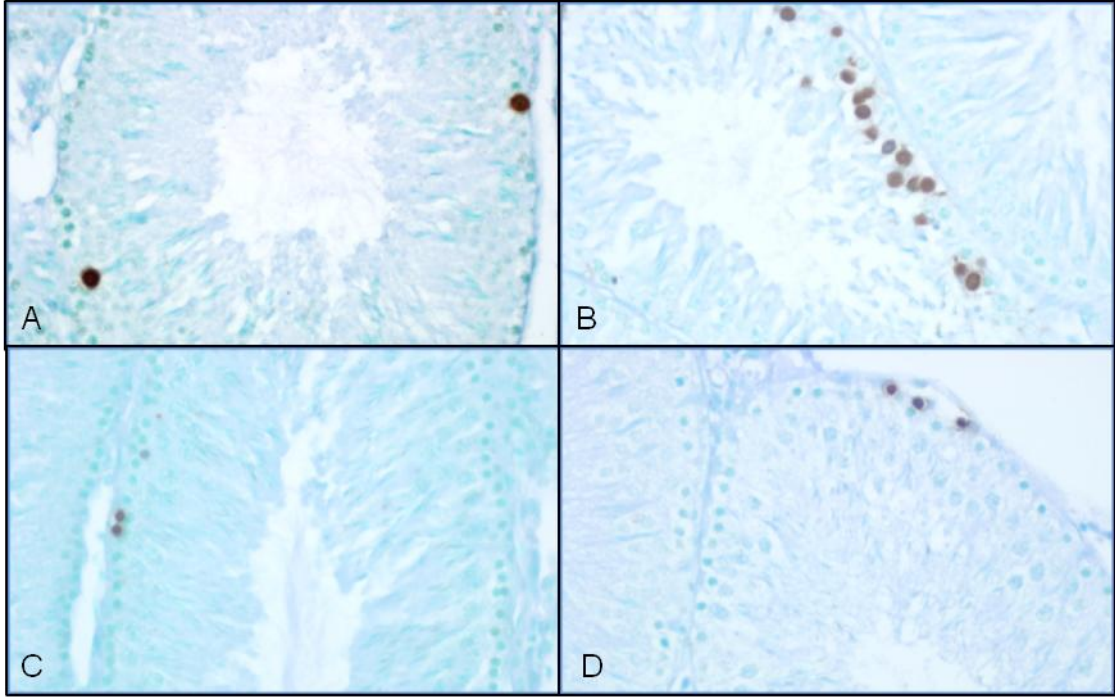


Şekil 4-9: Sigara + Kurkumin grubuna ait testis kesitinde seminifer tübül epiteli (1), Leydig hücresi (2), Sertoli hücresi (3), spermatogonyum (4), bazal membran (5), myeloid hücre (6), lümen (7), H+E x 20.



Şekil 4-10: Sigara + Kurkumin grubuna ait testis kesitinde Leydig hücresi (1), Sertoli hücresi (2), spermatogonyum (3), kan damarı (4), bazal membran (5), myeloid hücre (6), H+E x 100.

4.1.2. TUNEL Bulguları



Şekil 4-11: A:kontrol grubu, B:sigara grubu, C:kurkumin grubu, D:sigara+kurkumin grubunda görülen apoptotik hücreler (x40).

Deney sonunda testis dokusu kesitlerine yapılan tunel metodu ile apoptotik hücre tayininde hiçbir grupta Leydig hücresi apoptozuna rastlanmadı. Spermatogenik hücrelerde ise apoptoz gözlemlendi (Şekil 4-11). En fazla apoptotik hücreye sigara dumanı soluyan grupta rastlandı. En az apoptotik hücre sayısı ise kontrol grubuna ait kesitlerde görüldü. Gruplar arası karşılaştırmalarda tüm gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardı ($P= 0,098$) (Şekil 4-12).

Eşit Dağılım Testi: Geçti ($P= 0,098$)

One Way ANOVA Testi:

Grup Adı	N	Kayıp	Ortalama	Std Sapma	SEM
Kontrol	8	0	15,875	0,641	0,227
Sigara	8	0	35,5	1,69	0,598
Kurkumin	8	0	20,125	0,835	0,295
Sigara+Kurkumin	8	0	30	1,773	0,627

Dağılımın Kaynağı	DF	SS	MS	F	P
Gruplar Arasında	3	1933,75	644,583	362,781	<0,001
Kalan	28	49,75	1,777		
Toplam	31	1983,5			

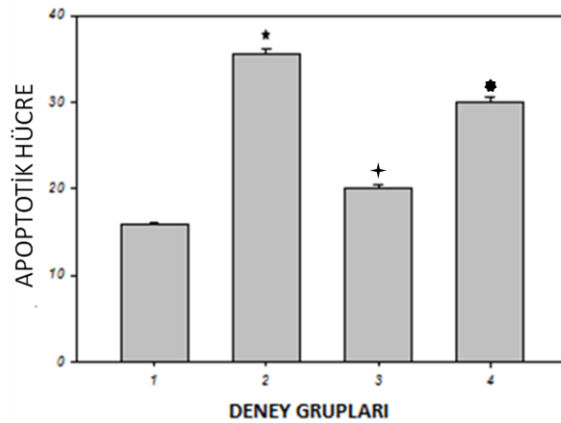
Deney gruplarının ortalama değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görüldü ($P<0,001$).

Holm-Sidak metodu:

Genel anlamlılık değeri = 0,05

Karşılaştırma	Farklılık	t	P	Kritik Değer	Farklılık?
Sigara x Kontrol	19,625	29,446	<0,001	0,009	Var
Sigara x Kurkumin	15,375	23,069	<0,001	0,01	Var
Sigara+Kurkumin x Kontrol	14,125	21,193	<0,001	0,013	Var
Sigara+Kurkumin x Kurkumin	9,875	14,817	<0,001	0,017	Var
Sigara x Sigara+Kurkumin	5,5	8,252	<0,001	0,025	Var
Kurkumin x Kontrol	4,25	6,377	<0,001	0,05	Var

Tablo 1: Deney gruplarına ait apoptotik hücre sayılarının istatistiksel analizini gösteren tablo.



Şekil 4-12: Deney gruplarına göre apoptotik hücrelerin istatistiksel grafiği. Kontrol grubu (1), Sigara grubu (2), Kurkumin grubu (3), Sigara + Kurkumin grubu (4).

★; sigara grubunun, kontrol, kurkumin ve sigara+kurkumin grubuna göre ($p<0,05$), +; kurkumin grubunun sadece kontrol grubuna göre ($p<0,05$), ★; sigara+kurkumin grubunun, kurkumin ve kontrol grubuna göre ($p<0,05$) istatistiksel olarak anlamlı farklılık gösterdiğini ifade etmektedir.

4.2. Vücut ağırlıklarının değerlendirilmesi

Sıçanların deneyden önceki ağırlıkları ile deney sonrası ağırlıkları ölçüldü. Buna göre sigara dumanı soluyan sıçanlardaki ağırlık artışı kontrol ve kurkumin grubundaki ağırlık artışına göre daha az gözlemlendi ve istatistiksel olarak anlamlıydı (kontrol için: $p=0,004$, kurkumin için: $p=0,006$). Sigara grubu ve sigara ile birlikte kurkumin verilen grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlemlenmedi ($p=0,874$). Kontrol grubu ile kurkumin grubu arasında da istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmedi ($p=0,462$). Kurkumin grubu ve sigara ile birlikte kurkumin verilen grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlemlenmedi ($p=0,010$). Kontrol grubu ve sigara ile birlikte kurkumin verilen grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmedi ($p=0,011$).

Grup Adı	N	Kayıp	Ortalama	Std Sapma	Minimum	Maksimum
Kontrol	8	0	80	10,61	58	93
Sigara	8	0	62	6,949	53	71
Kurkumin	8	0	77	8	66	88
Sigara+Kurkumin	8	0	64	7,9	57	78

Tablo 2: Deney gruplarına göre sıçanların vücut ağırlıklarının istatistiksel analizini gösteren tablo.

4.3. Sperm sayısı

Deney sonunda istatistiklerine göre sigara dumanı soluyan gruptaki sıçanların sperm sayısı diğerlerine göre en düşük sayıda bulunurken, en fazla sperm sayısı sadece kurkumin verilen grupta görüldü. Kontrol grubu ile sigara dumanı soluyan ve beraberinde kurkumin verilen grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmedi ($p=0,083$) (Şekil 4-13).

Eşit Dağılım Testi: Geçti ($P= 0,856$)

One Way ANOVA Testi:

Grup Adı	N	Kayıp	Ortalama	Std Sapma	SEM
Kontrol	8	0	254,625	30,298	10,712
Sigara	8	0	198,75	21,835	7,72
Kurkumin	8	0	285,875	24,092	8,518
Sigara+Kurkumin	8	0	232,75	19,747	6,981

Dağılımın Kaynağı	DF	SS	MS	F	P
Gruplar Arasında	3	32292,3	10764,1	18,205	<0,001
Kalan	28	16555,8	591,277		
Toplam	31	48848			

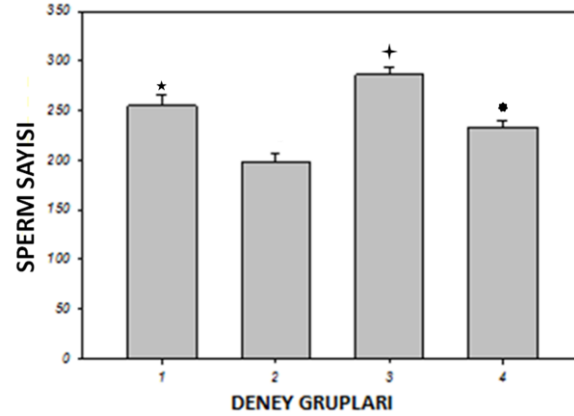
Deney gruplarının ortalama değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görüldü ($P<0,001$).

Holm-Sidak metodu:

Genel anlamlılık değeri = 0,05

Karşılaştırma	Farklılık	t	P	Kritik Değer	Farklılık ?
Kurkumin x Sigara	87,125	7,166	<0,001	0,009	Var
Kontrol x Sigara	55,875	4,596	<0,001	0,01	Var
Kurkumin x Sigara+Kurkumin	53,125	4,37	<0,001	0,013	Var
Sigara+Kurkumin x Sigara	34	2,796	0,009	0,017	Var
Kurkumin x Kontrol	31,25	2,57	0,016	0,025	Var
Kontrol x Sigara+Kurkumin	21,875	1,799	0,083	0,05	Yok

Tablo 3: Deney gruplarına göre sperm sayılarının istatistiksel analizini gösteren tablo.



Şekil 4-13: Deney gruplarına göre sperm sayılarının istatistiksel grafiği. Kontrol grubu (1), Sigara grubu (2), Kurkumin grubu (3), Sigara + Kurkumin grubu (4).

★; kontrol grubunun sigara ve sigara kurkumin grubuna göre ($p < 0,05$), +; kurkumin grubunun, kontrol, sigara, sigara+kurkumin grubuna göre ($p < 0,05$), ★; sigara+kurkumin grubunun, sigara grubuna göre ($p < 0,05$) istatistiksel olarak anlamlı farklılık gösterdiğini ifade etmektedir.

4.4. Morfolojik anomaliler

4.4.1. Başsız kuyruk

Deney sonunda kaudal epididimden alınan sperm örneklerinden yapılan yayma preparatların morfolojik değerlendirilmesinde gruplar arasında başsız kuyruklara sahip sperm sayısında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmedi ($P = 0,281$) (Şekil 4-14).

Eşit Dağılım Testi: Geçti ($P = 0,281$)

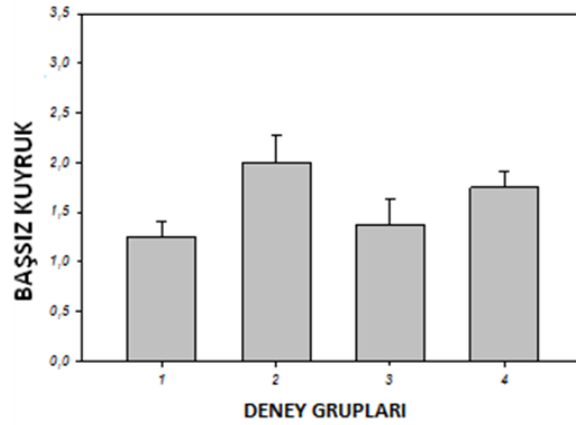
One Way ANOVA Testi:

Grup Adı	N	Kayıp	Ortalama	Std Sapma	SEM
Kontrol	8	0	1,25	0,463	0,164
Sigara	8	0	2	0,756	0,267
Kurkumin	8	0	1,375	0,744	0,263
Sigara+Kurkumin	8	0	1,75	0,463	0,164

Dağılımın Kaynağı	DF	SS	MS	F	P
Gruplar Arasında	3	2,844	0,948	2,441	0,085
Kalan	28	10,875	0,388		
Toplam	31	13,719			

Tablo 4: Deney gruplarına göre morfolojik olarak başsız kuyruk anomalisine sahip sperm sayılarının istatistiksel analizini gösteren tablo.

Deney gruplarının ortalama değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmedi ($P=0,085$).



Şekil 4-14: Deney gruplarına göre başsız kuyruk anomalisine sahip sperm sayılarının istatistiksel grafiği. Kontrol grubu (1), Sigara grubu (2), Kurkumin grubu (3), Sigara + Kurkumin grubu (4).

4.4.2. Kırık Boyun

Deney sonunda kaudal epididimden alınan sperm örneklerinden yapılan yayma preparatların morfolojik değerlendirilmesinde sigara dumanı soluyan grupta kırık boyun anomalisine sahip sperm sayısının istatistiksel olarak kontrol grubuna göre daha fazla olduğu görüldü (0,001). Diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmedi (Şekil 4-15).

Eşit Dağılım Testi: Geçti ($P= 0,272$)

One Way ANOVA Testi:

Grup Adı	N	Kayıp	Ortalama	Std Sapma	SEM
Kontrol	8	0	0,5	0,535	0,189
Sigara	8	0	1,375	0,518	0,183
Kurkumin	8	0	0,875	0,354	0,125
sigara+kurkumin	8	0	1	0,535	0,189

Dağılımın Kaynağı	DF	SS	MS	F	P
Gruplar Arasında	3	3,125	1,042	4,321	0,013
Kalan	28	6,75	0,241		
Toplam	31	9,875			

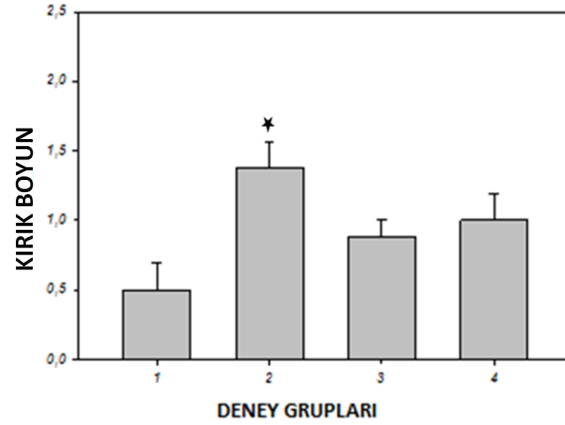
Deney gruplarının ortalama değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görüldü ($P=0,013$).

Holm-Sidak metodu:

Genel anlamlılık değeri = 0,05

Karşılaştırma	Farklılık	t	P	Kritik Değer	Farklılık?
Sigara x Kontrol	0,875	3,564	0,001	0,009	Var
Sigara x Kurkumin	0,5	2,037	0,051	0,01	Yok
Sigara+Kurkumin x Kontrol	0,5	2,037	0,051	0,013	Yok
Sigara x Sigara+Kurkumin	0,375	1,528	0,138	0,017	Yok
Kurkumin x Kontrol	0,375	1,528	0,138	0,025	Yok
Sigara+Kurkumin x Kurkumin	0,125	0,509	0,615	0,05	Yok

Tablo 5: Deney gruplarına göre morfolojik olarak kırık boyun anomalisine sahip sperm sayılarının istatistiksel analizini gösteren tablo..



Şekil 4-15: Deney gruplarına göre kırık boyun anomalisine sahip spermilerin istatistiksel grafiği. Kontrol grubu (1), Sigara grubu (2), Kurkumin grubu (3), Sigara + Kurkumin grubu (4).

★; sigara grubunun kontrol grubuna göre ($p < 0,05$) istatistiksel olarak anlamlı farklılık gösterdiğini ifade etmektedir.

4.4.3. Kırık kuyruk

Deney sonunda kaudal epididimden alınan sperm örneklerinden yapılan yayma preparatların morfolojik değerlendirilmesinde sigara dumanı soluyan grupta kırık kuyruk anomalisine sahip sperm sayısının istatistiksel olarak kontrol grubuna göre daha fazla olduğu görüldü. Diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmedi (Şekil 4-16).

Eşit Dağılım Testi: Geçti ($P = 0,348$)

One Way ANOVA Testi:

Grup Adı	N	Kayıp	Ortalama	Std Sapma	SEM
Kontrol	8	0	2	0,926	0,327
Sigara	8	0	3,625	1,506	0,532
Kurkumin	8	0	2,625	1,061	0,375
Sigara+Kurkumin	8	0	3,5	0,756	0,267

Dağılımın Kaynağı	DF	SS	MS	F	P
Gruplar Arasında	3	14,125	4,708	3,906	0,019
Kalan	28	33,75	1,205		
Toplam	31	47,875			

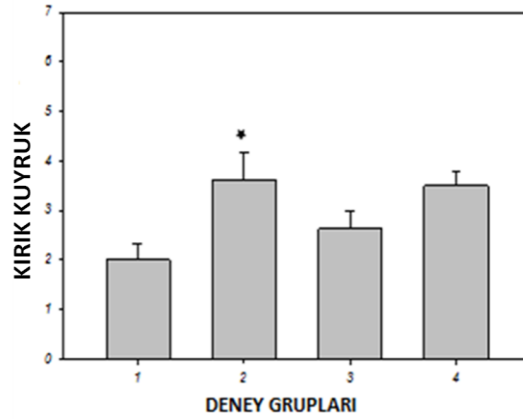
Deney gruplarının ortalama değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görüldü (P=0,019).

Holm-Sidak metodu:

Genel anlamlılık değeri = 0,05

Karşılaştırma	Farklılık	t	P	Kritik Değer	Farklılık?
Sigara x Kontrol	1,625	2,96	0,006	0,009	Var
Sigara+Kurkumin x Kontrol	1,5	2,733	0,011	0,01	Yok
Sigara x Kurkumin	1	1,822	0,079	0,013	Yok
Sigara+Kurkumin x Kurkumin	0,875	1,594	0,122	0,017	Yok
Kurkumin x Kontrol	0,625	1,139	0,265	0,025	Yok
Sigara x Sigara+Kurkumin	0,125	0,228	0,822	0,05	Yok

Tablo 6: Deney gruplarına göre morfolojik olarak kırık kuyruk anomalisine sahip sperm sayılarının istatistiksel analizini gösteren tablo.



Şekil 4-16: Deney gruplarına göre kırık kuyruk anomalisine sahip spermilerin istatistiksel grafiği. Kontrol grubu (1), Sigara grubu (2), Kurkumin grubu (3), Sigara + Kurkumin grubu (4).

★; sigara grubunun kontrol grubuna göre ($p < 0,05$) istatistiksel olarak anlamlı farklılık gösterdiğini ifade etmektedir.

4.4.4. Kıvrık kuyruk

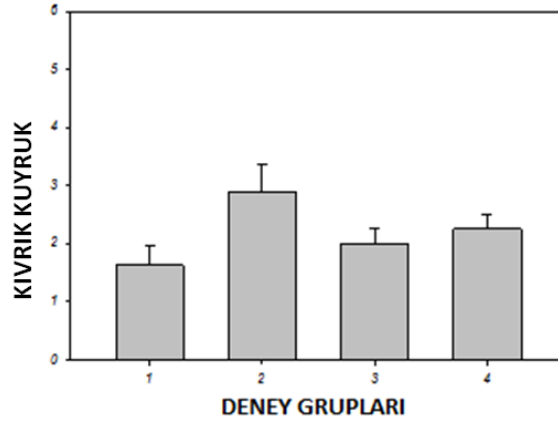
Deney sonunda kaudal epididimden alınan sperm örneklerinden yapılan yayma preparatların morfolojik değerlendirilmesinde kıvrık boyun anomalisine sahip sperm sayısında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmedi (Şekil 4-17).

Grup Adı	N	Kayıp	Ortalama	Std Sapma	SEM
Kontrol	8	0	1,625	0,916	0,324
Sigara	8	0	2,875	1,356	0,479
Kurkumin	8	0	2	0,756	0,267
Sigara+Kurkumin	8	0	2,25	0,707	0,25

Dağılımın Kaynağı	DF	SS	MS	F	P
Gruplar Arasında	3	6,625	2,208	2,356	0,093
Kalan	28	26,25	0,938		
Toplam	31	32,875			

Tablo 7: Deney gruplarına göre morfolojik olarak kıvrık kuyruk anomalisine sahip sperm sayılarının istatistiksel analizini gösteren tablo.

Deney gruplarının ortalama değerleri arasında anlamlı bir farklılık görülmedi ($P=0,093$).



Şekil 4-17: Deney gruplarına göre kıvrık kuyruk anomalisine sahip spermilerin istatistiksel grafiği. Kontrol grubu (1), Sigara grubu (2), Kurkumin grubu (3), Sigara + Kurkumin grubu (4).

4.4.5. Kuyruksuz Baş

Deney sonunda kaudal epididimden alınan sperm örneklerinden yapılan yayma preparatların morfolojik değerlendirilmesinde kuyruksuz baş anomalisine sahip sperm sayısı en fazla sigara dumanı soluyan grupta gözlemlendi. Sigara ile kontrol, sigara ile kurkumin ve sigara ile sigara+kurkumin grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülürken diğer gruplar arasında yapılan karşılaştırmalarda anlamlı bir farklılık görülmedi (Şekil 4-18).

Grup Adı	N	Kayıp	Ortalama	Std Sapma	SEM
Kontrol	8	0	1,5	0,535	0,189
Sigara	8	0	4	1,414	0,5
Kurkumin	8	0	1,75	0,886	0,313
Sigara+Kurkumin	8	0	1,875	1,126	0,398

Dağılımın Kaynağı	DF	SS	MS	F	P
Gruplar arasında	3	32,094	10,698	9,861	<0,001
Kalan	28	30,375	1,085		
Toplam	31	62,469			

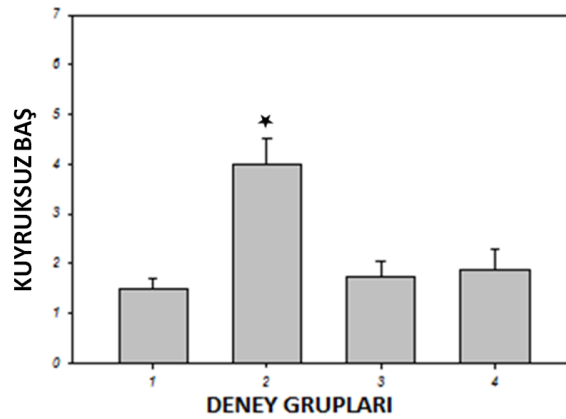
Deney gruplarının ortalama değerleri arasında anlamlı bir farklılık görüldü ($P < 0,001$).

Holm-Sidak metodu:

Genel anlamlılık değeri = 0,05

Karşılaştırma	Farklılık	t	P	Kritik Değer	Farklılık?
Sigara x Kontrol	2,5	4,801	<0,001	0,009	Var
Sigara x Kurkumin	2,25	4,32	<0,001	0,01	Var
Sigara x Sigara+Kurkumin	2,125	4,08	<0,001	0,013	Var
Sigara+Kurkumin x Kontrol	0,375	0,72	0,477	0,017	Yok
Kurkumin x Kontrol	0,25	0,48	0,635	0,025	Yok
Sigara+Kurkumin x Kurkumin	0,125	0,24	0,812	0,05	Yok

Tablo 8: Deney gruplarına göre morfolojik olarak kuyruksuz baş anomalisine sahip sperm sayılarının istatistiksel analizini gösteren tablo.



Şekil 4-18: Deney gruplarına göre kuyruksuz baş anomalisine sahip spermelerin istatistiksel grafiği. Kontrol grubu (1), Sigara grubu (2), Kurkumin grubu (3), Sigara + Kurkumin grubu (4). ;

★; sigara grubunun, kontrol, kurkumin ve sigara+kurkumin grubuna göre ($p < 0,05$) istatistiksel olarak anlamlı farklılık gösterdiğini ifade etmektedir.

4.4.6. Toplu İğne Başı

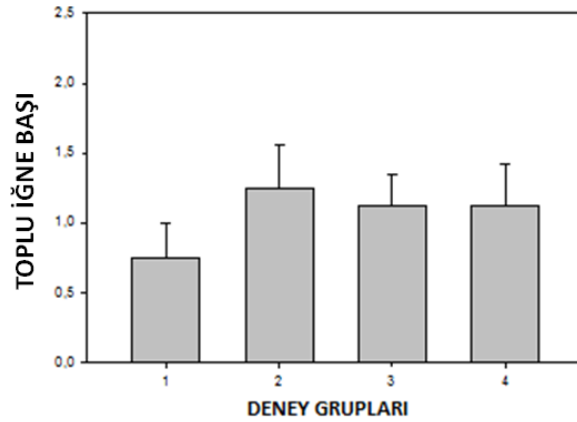
Kruskal-Wallis One Way Analizi

Deney sonunda kaudal epididimden alınan sperm örneklerinden yapılan yayma preparatların morfolojik değerlendirilmesinde toplu iğne başı anomalisine sahip sperm sayısında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmedi (Şekil 4-19).

Grup Adı	N	Kayıp	Ortalama	25%	75%
Kontrol	8	0	1	0	1
Sigara	8	0	1,5	0,5	2
Kurkumin	8	0	1	1	1,5
Sigara+Kurkumin	8	0	1	0,5	2

Tablo 9: Deney gruplarına göre morfolojik olarak toplu iğnebaşı anomalisine sahip sperm sayılarının istatistiksel analizini gösteren tablo.

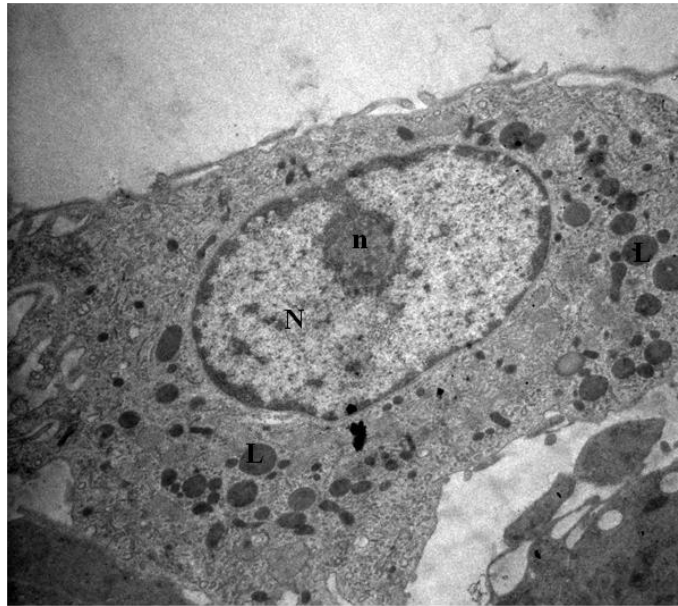
Deney gruplarının ortalama değerleri arasında anlamlı bir farklılık görülmedi ($P = 0,573$).



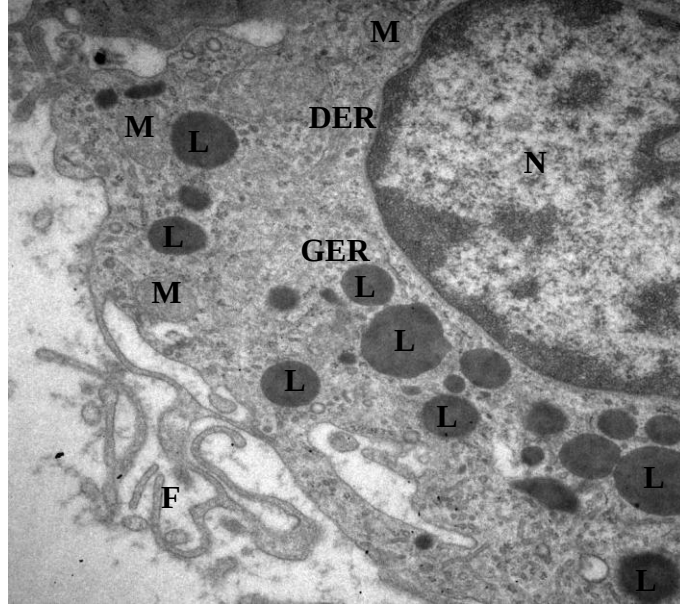
Şekil 4-19: Deney gruplarına göre toplu iğne başı anomalisine sahip spermilerin istatistiksel grafiği. Kontrol grubu (1), Sigara grubu (2), Kurkumin grubu (3), Sigara + Kurkumin grubu (4).

4.5. Elektron Mikroskopik Bulgular

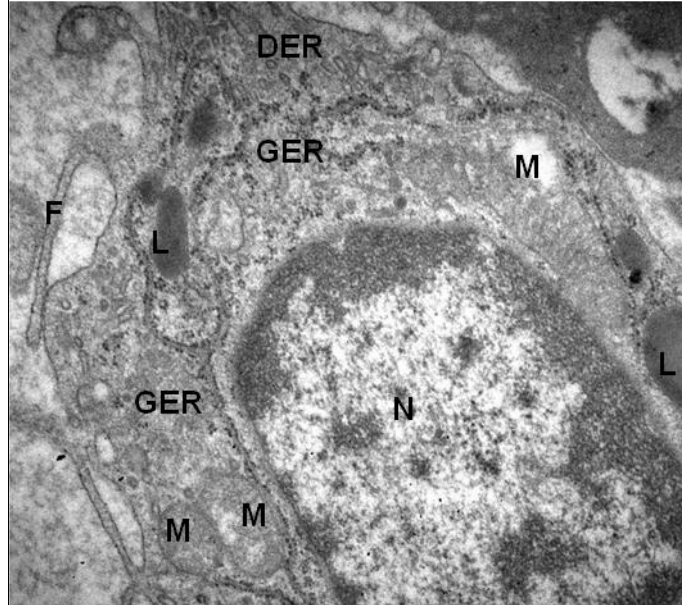
Kontrol grubuna ait sıçanlara ait Leydig hücresinin ultrastruktürel yapısı genel olarak literatüre uygun görünümdeydi. Hücreler poligonal bir şekle sahipti. Nukleus yuvarlak ve ovale yakın düzgün çeperli heterokromatince zengin bir yapıdaydı. Genellikle bir tane nukleolus görülmekteydi (Şekil 4-20). DER'ler sitoplazmanın bütün bölgelerinde uzun kanallar ve yer yer enine kesilmiş yuvarlak boşluklar halinde görülmekteydi. GER'ler hücrelerin çeşitli bölgelerinde gruplaşmış genelde kısa boylu kanalcıklar şeklinde görülmekteydi.(Şekil 4-21,4-22) Mitokondriler irili ufaklı değişik boyutlarda ve yuvarlak uzun ve zaman zaman çomak şeklinde kıvrık bir morfolojiye sahipti. Mitokondriler tübüler ve lameller tarzda kristalara sahipti. Sitoplazma içerisindeki değişik boyutlarda lipid damlaları, mitokondri ve DER ile yakın ilişkili olarak gözlendi. Kontrol grubunda hücrelerin bütün yüzeyinde filopod olarak tarif edilen uzun sitoplazmik ayaklar bulunmaktaydı. Az sayıda pinositotik vesiküle de rastlanmaktaydı (Şekil 4-20, 4-21, 4-22)



Şekil 4-205: Kontrol grubuna ait Leydig hücresi. Nukleus (N), Nukleolus (n), Lipid damlası (L), x12.000.

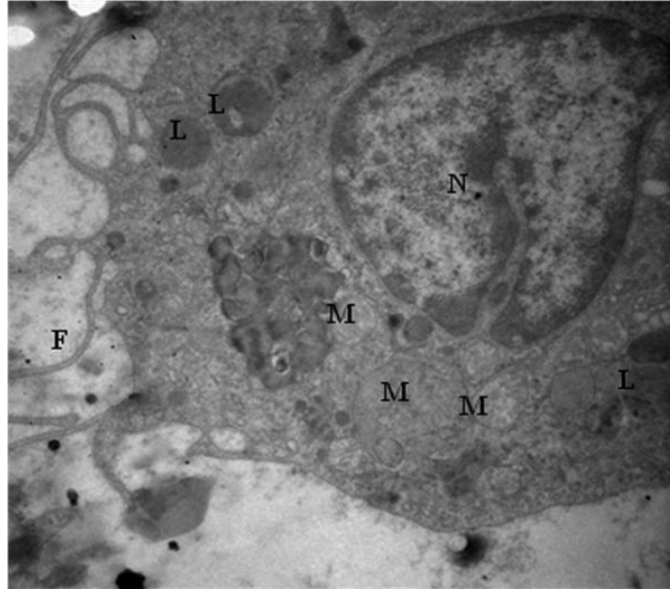


Şekil 4-216: Kontrol grubuna ait Leydig hücresi. Nukleus (N), Mitokondri (M), Lipid damlası (L), Düz endoplazmik retikulum (DER), Granüllü endoplazmik retikulum (GER), Filopod (F), x25.000.

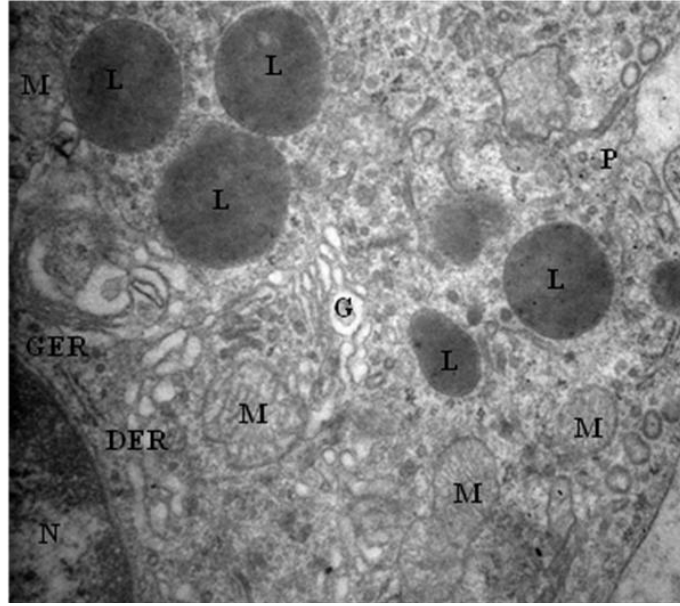


Şekil 4-22: Kontrol grubuna ait Leydig hücresi. Nukleus (N), Mitokondri (M), Lipid damlası (L), Düz endoplazmik retikulum (DER), Granüllü endoplazmik retikulum (GER), Filopod (F), x40.000.

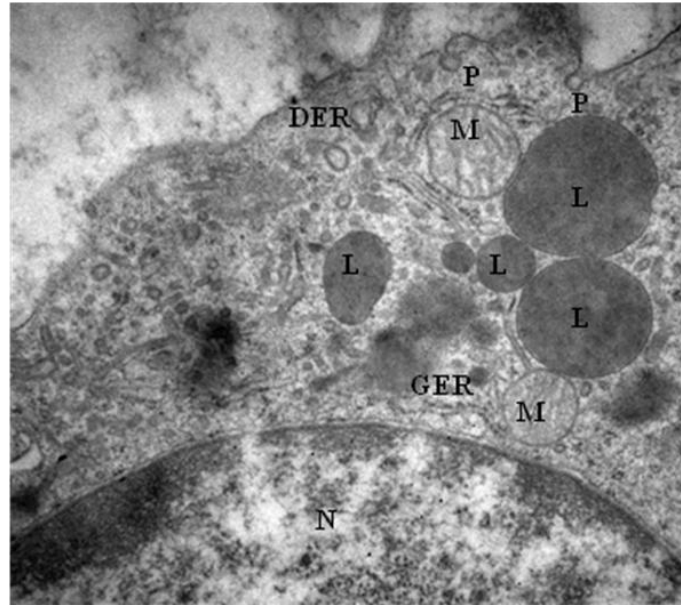
Sigara grubuna ait Leydig hücreleri kontroldeki gibi poligonal bir şekle sahipti. Nukleusta sitoplazmik girintiler artmıştı ve nukleus girintili çıkıntılı idi (Şekil 4-23). DER'in lümenleri kontrole göre genişlemiş ve şişmiş olarak gözlemlendi. GER hücre periferinde ve nukleusa yakın olarak bulunuyordu. Lipit, mitokondri ve DER'ler birbirlerine yakın olarak yerleşmişlerdi. Ancak bu üçlü, sigara grubuna ait bazı hücrelerde sitoplazma içinde gruplaşmalar yapacak şekilde yerleşim gösteriyorlardı. Bazı mitokondrilerde krista kaybına bağlı hasar olduğu saptandı. Lipit damlaları kontrole göre daha az sayıda gözlemlendi (Şekil 4-24, 4-25). Çok sayıda pinositotik vesikül görüldü (Şekil 4-25). Sigara grubunda Leydig hücresine ait filopodlar daha uzamış olarak gözlemlendi (Şekil 4.23).



Şekil 4-23: Sigara grubuna ait Leydig hücresi. Nukleus (N), Mitokondri (M), Lipid damlası (L), Filopod (F), x10.000.

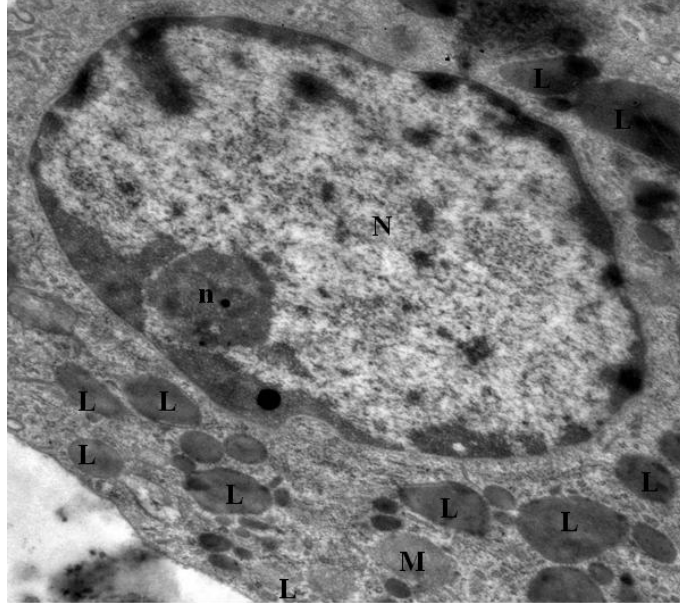


Şekil 4-24: Sigara grubuna ait Leydig hücresi. Nukleus (N), Mitokondri (M), Lipid damlası (L), Düz endoplazmik retikulum (DER), Granüllü endoplazmik retikulum (GER), Golgi aygıtı (G), x40.000.

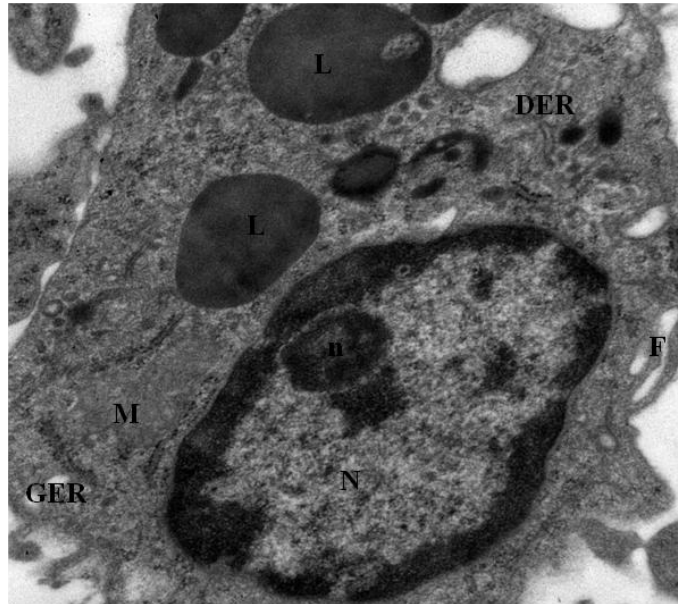


Şekil 4-25: Sigara grubuna ait Leydig hücresi. Nukleus (N), Mitokondri (M), Lipid damlası (L), Düz endoplazmik retikulum (DER), Granüllü endoplazmik retikulum (GER), Pinositotik vesikül (P), x40.000.

Kurkumin verilen gruba ait Leydig hücreleri kontrol grubuna benzerdi. Nukleusu, mitokondrileri, endoplazmik retikulumları ve diğer sitoplazmik elemanları da normal bir görünüme sahipti. Sadece lipid damlalarına daha fazla sayıda rastlandı. Kurkumin grubuna ait filopodlar kontrol grubuna benzer gözlemlendi (Şekil 4-26, 4-27)

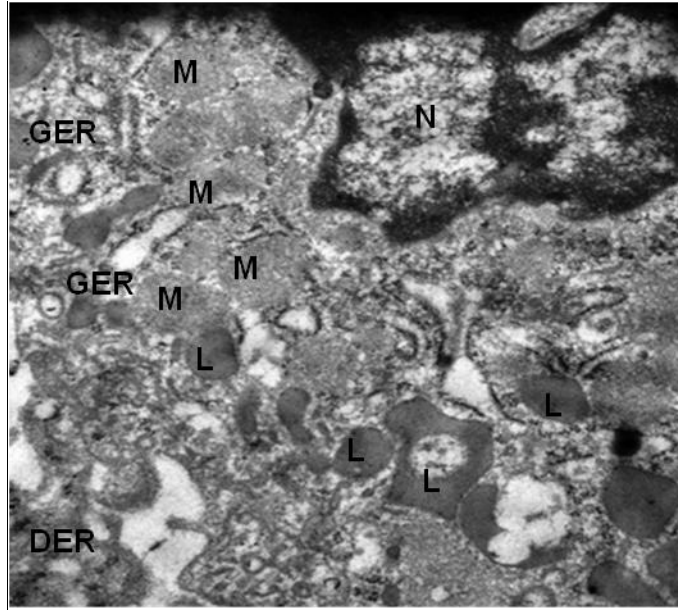


Şekil 4-26: Kurkumin grubuna ait Leydig hücresi. Nukleus (N), Nukleolus (n), Mitokondri (M), Lipid damlası (L), x25.000.

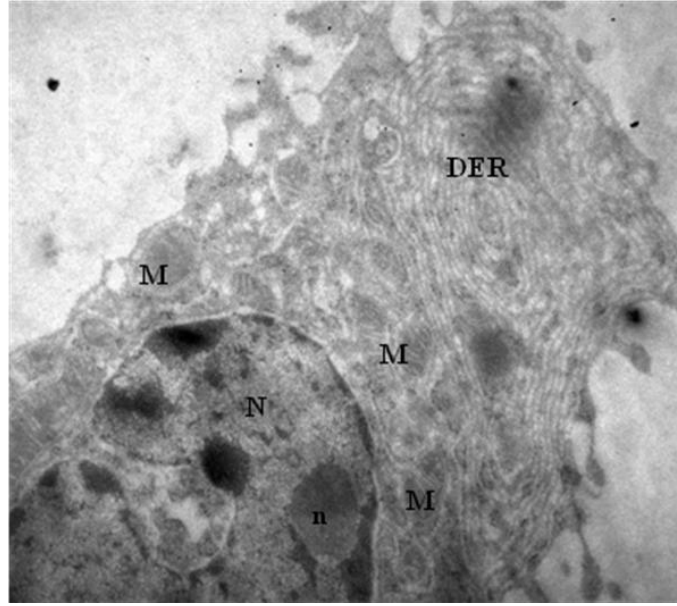


Şekil 4-27: Kurkumin grubuna ait Leydig hücresi. Nukleus (N), Nukleolus (n), Mitokondri (M), Lipid damlası (L), Düz endoplazmik retikulum (DER), Granüllü endoplazmik retikulum (GER), Filopod (F), x40.000.

Kurkumin ile birlikte sigara verilen gruba ait Leydig hücrelerinin elektron mikroskobu kesitlerinde hücrenin şeklini koruduğu gözlemlendi. Fakat sigara grubunda olduğu gibi nukleusta sitoplazmik girintiler artmıştı ve nukleus girintili çıkıntılı idi. DER ve GER lümenlerinde genişlemeler gözlemlendi (Şekil 4-28, 4-29). Bazı hücrelerde DER'in halkalar tarzında yumak yapacak şekilde geliştiğini gözlemledik (Şekil 4-29). Az sayıda mitokondride krista kaybına bağlı hasar olduğu saptandı. Filopodlarda herhangi bir değişiklik gözlenmedi (Şekil 4-28, 4-29).



Şekil 4-28: Sigara+kurkumin grubuna ait Leydig hücresi. Nukleus (N), Mitokondri (M), Lipid damlası (L), Düz endoplazmik retikulum (DER), Granüllü endoplazmik retikulum (GER), x40.000.



Şekil 4-29: Sigara+kurkumin grubuna ait Leydig hücresi. Nukleus (N), Nukleolus (n), Mitokondri (M), Düz endoplazmik retikulum (DER), x30.000.

5. TARTIŞMA

Sigara, günümüzde halk sağlığını tehdit eden en büyük etmenlerden birisidir. İstatistiklere göre yaklaşık 5 milyonu aktif içici ve yaklaşık 600 bini pasif içici olmak üzere yılda yaklaşık 6 milyon kişinin ölümüne neden olmaktadır. Dünya çapında, %80'i az gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde yaşayan yaklaşık 1 milyar insan sigara içmektedir. 20.yüzyılda yaklaşık 100 milyon kişinin ölümüne neden olan sigaranın, eğer bu şekilde devam ederse 21. yüzyılda da 1 milyar kişinin ölümüne neden olacağı tahmin edilmektedir (45).

Erkek üreme sistemi üzerine sigaranın zararlarını konu alan bir çok çalışma mevcuttur. Bu çalışmalar genelde hormonal yapının bozulması, DNA hasarı oluşması, interstisyel hücrelerin fonksiyonundaki bozukluklar, sperm sayısı, morfolojisi ve motilitesinde azalma ile alakalıdır. Sigaranın direkt kullanımı yada sigara dumanının solunması sonucu oksidan ve antioksidan arasındaki dengenin oksidanların artışı yönünde bozulması ile reaktif oksijen türevleri (ROT) oluşur. ROT, dokularda oksidatif strese neden olur. Oksidatif stres de vücuttaki tüm sistemleri olumsuz yönde etkiler. Testis, kan damarlarından oldukça zengin bir doku olduğu için sigarada bulunan ve kanla taşınan toksik maddelerden olumsuz yönde etkilenir.

Mohamed ve ark. sıçanları günde 3 defa 8'er dakika sigara dumanı etkisi altında bırakmışlardır. Ayrıca sıçanlara 1,2g/kg bal vermişlerdir. Deney 13 hafta sürmüştür. Sıçanların sigara dumanı etkisi altında kalmalarının, kontrol grubuna göre daha küçük çaplı ve germ hücre kaybının yüksek olduğu seminifer tübüllere sahip olmalarına neden olduğunu gözlemlemişlerdir. Bunun yanında Leydig hücrelerinin sayıca azaldığını ve total antioksidan seviyesinde düşüş tespit etmişlerdir (49).

Pekmez ve ark. ise sıçanları günde 4 periyot halinde 30'ar dakika sigara dumanı etkisi altında bırakmışlardır. Sigara dumanı etkisi altında kalan sıçanların serum testosteron seviyelerinde ve seminifer tübül çaplarında düşüş gözlemişlerdir. Ayrıca ışık mikroskopik olarak incelenen testislerde, interstisyel alandaki damarlarda konjesyonun olduğunu, seminifer tübüllerde spermatogenik hücrelerin azaldığını ve aralarında yer yer vakuolizasyonların bulunduğunu tespit etmişlerdir. Sigara ile birlikte intraperitoneal olarak bir antioksidan olan kafeik asit fenetil esterinin verilmesi ile sigaranın neden olduğu durumların oluşmadığını gözlemişlerdir (82).

Yapmış olduğumuz bu çalışmada sigara etkisi altında bıraktığımız sıçanların seminifer tübüllerinde dejenerasyona rastladık. Seminifer tübül duvarında hem bazal hem de apikal kompartmanlarda hücreler arasında yer yer boşlukların olduğunu saptadık. Ayrıca bazı spermatogonyumların nukleuslarında şekil bozuklukları gözledik ve bu tip hücrelerin yuvarlaklığını kaybetmiş olduğunu saptadık. Bazı tübüllerin lümeninde olgunlaşmamış hücreler gözledik. Bu sonuçlarla yukarıda bahsedilen daha önceden yapılan makaleler paralellik göstermektedir.

Birçok bitkinin köklerinden veya yumrularından elde edilen bitkisel kimyasallar günümüzde alternatif ve tamamlayıcı tıpta oldukça yaygın kullanılan ürünlerdir. Turmerik, Zerdeçal veya Latince ismi ile *Curcuma longa*; Zingiberaceae ailesine ait, çok yıllık, boyu 1 metre kadar uzayabilen kısa köklü otsu bir bitkidir. Hindistan ve Çin başta olmak üzere genel olarak Asya ülkelerinde yetişir. Bu bitkinin kökünden elde edilen sarı renkli toz Türkiye'de turmerik veya zerdeçal olarak, Hindistan'da ise turmerik, haridra veya haldi olarak adlandırılır. Kurkuminin antioksidan özelliği, alkol, ilaç, radyasyon ve ağır metaller gibi zararlı etmenlerin etkisinde kalma sonucunda ortaya çıkan hasarı önlediğini gösteren çalışmalarla kanıtlanmıştır.(22,23,24). Kurkumin bir serbest radikal temizleyicisi ve hidrojen donörüdür. Özellikle demir ve bakır gibi metallere bağlanırlar ve demir kıskacı gibi bir fonksiyon gösterirler (25).

Mathuria ve ark. 6 grup olarak ayırdığı sıçanların bir grubunu kontrol, 2 grubunu 750 µg/kg düşük doz ve 1500 µg/kg (0,2 ml zeytin yağında çözünmüş) yüksek doz aflatoksin vererek, diğer 2 gruba 750 µg/kg düşük doz ve 1500 µg/kg yüksek doz aflatoksine ilave 2 mg kurkumini 0,2 ml zeytinyağında çözerek ve bir gruba sadece 2 mg kurkumini 0,2 ml zeytinyağında çözerek uygulamışlardır. Aflatoksin, *Aspergillus flavus* ve *Aspergillus parasiticus* tarafından üretilen zehirli ve kanserojen bir maddedir. Normalde toprakta bulunur. Hasat öncesinde ve depolama sırasında tahıla bulaşıp çoğalabilir. 45 günlük aflatoksin uygulaması sonucu istatistiksel değerlendirmede doz bağımlı olarak sperm sayısında, canlılığında ve hareketliliğinde azalma görülürken anormal morfolojiye sahip sperm sayısında artma görmüşlerdir. Aflatoksin beraberinde gavaj yoluyla kurkumin verilmesinin, sadece aflatoksin verilen sıçanlarla karşılaştırıldığında, sperm parametrelerini iyileştirdiğini gözlemişlerdir. Düşük aflatoksin dozları ile birlikte kurkumin verilmesinin tamamen iyileşme ile sonuçlandığını, yüksek aflatoksin dozları ile birlikte kurkumin verilmesinin kısmi iyileşme ile sonuçlandığını tespit etmişlerdir (83).

İlbey ve ark yaptıkları çalışmada testis, ovaryum, serviks, endometrium gibi dokulardaki tümörlerin tedavisinde kullanılan ve oldukça etkili antineoplastik DNA alkilleyici ajan olan cisplatin (cis) kullanılmıştır. Sıçanlara 7mg/kg intraperitoneal olarak tek doz cis enjeksiyonu yapmışlardır. Diğer bir gruba 200 mg/kg/gün kurkumin, mısır yağında çözünerek gavaj yolu ile vermişlerdir. Ayrıca bir gruba tek doz cis enjeksiyonu yapıldıktan sonra gruba gavaj yoluyla kurkumin vermişlerdir. Kontrol ile karşılaştırıldığında cis verilen sıçanlarda testis ağırlığı, plazma testosteron seviyesi, glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ve glutatyon (GSH) seviyesi önemli ölçüde düşerken malondialdehit (MDA) ve nitrik oksit (NO) seviyesi önemli ölçüde artmıştır. Cis ve kurkuminin beraber verildiği grupta ise sadece cis verilen grupla karşılaştırıldığında plazma testosteron seviyesi, GSH-Px ve GSH seviyesi önemli ölçüde artarken, MDA ve NO seviyeleri ise azalmıştır. Cis, düzensiz seminifer tübüllere ve seminifer epitelyum hücrelerinde azalmaya neden olmuştur. Kurkumin verilmesi ise dokuyu bu gibi histopatolojik değişikliklerden önemli ölçüde korumuştur (57).

Çalışmamızda, sadece kurkumin verdiğimiz grupta ışık mikroskopik incelemelerde, kontrol grubundan farklı herhangi bir bulguya rastlamadık. Seminifer tübül epitelinin oluşturan spermatogenik hücrelerin kontrol grubundaki gibi sıralı bir şekilde yerleşim gösterdiğini gözledik. İnterstisyel alanın ve burada yer alan Leydig hücrelerinin, kan ve lenf damarlarının normal morfolojiye sahip olduğu gözlemledik. Sigara inhalasyonu ile birlikte kurkumin verilen grubun ise kontrole daha yakın bir histoloji gösterdiğini gözledik. Seminifer tübül epitelinin oluşturan spermatogenik hücre yapısı ve seminifer tübül yapısı kontrol grubuna benzer olduğunu gördük. Sigara grubundaki kadar olmasa da spermatogenik hücreler arasında yer yer boşluklara rastladık. İnterstisyel alan ve Leydig hücrelerinde kontrolden farklı bir durum gözlemlemedik.

Yamamoto ve ark. yaptıkları çalışmada sigara dumanı etkisi altında kalan sıçanların kontrole göre epididimal sperm sayısında ve hareketliliğinde azalma, ayrıca in vivo ve in vitro olarak yapılan çalışmalarda fertilité de azalma gözlemişlerdir. Bu bulgulara dayanarak sigara dumanının Leydig hücrelerinin sekretuar fonksiyonunda bozukluğa ve sperm olgunlaşmasında yetersizliğe neden olduğu sonucuna varmışlardır (5). Salama A. ve ark. yaptıkları çalışmada başsız kuyruk ve kırık boyun gibi anomalilerin kadmiyumun germ hücreleri üzerine olumsuz etkisinin bir sonucu olarak gözlemlemişlerdir. Ayrıca kurkuminin sperm sayısını kontrol grubuna ve kadmiyum

verilen gruba göre artırdığını tespit etmişlerdir (84). Bizim çalışmamızda sperm sayısında düşüş ve sperm anomalilerinde artış muhtemelen sigara dumanının germ hücrelerini olumsuz yönde etkilemesinden veya epididimal sperm olgunlaşma işlemlerinde karşılaşılan aksaklıklardan kaynaklanıyordu. Leydig hücrelerinin sekretuar fonksiyonundaki bozukluklardan dolayı normal spermatogenez için gerekli olan testosteron sağlanmamış olabilir. Ayrıca bu durumdan testosteron ve androjen bağlayıcı proteinin önemli rol oynadığı epididimal sperm olgunlaşması işlemleri de etkilenmiş olabilir. Sperm sayısı kurkumin verilen grupta kontrole göre daha fazla iken, sigara ile birlikte kurkumin verilen grupta sperm sayısı kontrole göre daha az gözlemlendi. En fazla sayıda anormal sperm yapılarına sahip grup sigara dumanı soluyan gruptu. Sigara ile birlikte kurkumin verilen grupta daha az anormal sperme rastlandı. Kurkumin grubunda da anormal sperm yapısına sahip sperm sayısı kontrole göre daha fazla görüldü. Bu iki durum (sperm sayısı ve anormal morfolojide sperm) beraber düşünüldüğünde sigaranın sperm sayısını azalttığı, anormal yapıdaki sperm sayısını artırdığı, kurkuminin ise sperm sayısını artırdığı anlaşılmıştır. Ama bu sperm sayısının kontrole göre fazla olmasının, olgunlaşmamış spermatidlerin lümene atılmış olmasından kaynaklandığını düşündürmüştür.

Sigara dumanı soluyan sıçanlara ait testis dokusu kesitlerinde spermatogonik hücrelerdeki apoptotik hücre sayısı, kurkumin verilen gruba göre ve kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı oranda artmıştı. Apoptoza giden hücrelerin ağırlıklı olarak spermatogonyumlar olduğu görüldü. Leydig hücrelerine bakıldığında deney gruplarının hiç birinde apoptotik Leydig hücresine rastlanmadı. Bu durum bize sigara dumanının ağırlıklı olarak spermatogonik hücreler üzerinden zarar verdiğini düşündürdü.

Işık mikroskopik olarak Leydig hücrelerinde bir soruna rastlamasak da ultrastrüktürel olarak incelediğimizde Leydig hücrelerinde bazı değişimler gözlemledik. Kontrol ve kurkumin grubunun nukleusu düzgün ve oval bir şekle sahip iken, sigara grubu ve sigara + kurkumin grubunun nukleusu girintili çıkıntılı bir görünüme sahipti. Sigara grubunda ve sigara + kurkumin grubunda mitokondrilerde hasar ve DER’de genişlemeler görüldü. Ayrıca sigara+kurkumin grubuna ait GER’de de genişlemeler görüldü. GER’deki bu genişleme, testosteron yapımı esnasında kolesterolün lipid damlalarından mitokondrilere taşınmasını sağlayan StAR proteininin öncüllerinin GER’deki yapımının bir şekilde bloke edilebileceğini düşündürdü. Sigara grubundaki

filopodlar diğer gruplara göre daha uzun gözlemlendi. Sigara grubunda ve sigara + kurkumin grubunda lipid damlalarının diğer gruplara göre azaldığı saptandı. Lipid damlalarına en fazla kurkumin grubunda rastlandı. Bazı Leydig hücrelerinde nukleusların daha kromatince zengin ve oylum olarak küçük olduğu gözlemlendi. Bu görünümün apoptotik görünümlere benzemesi dikkat çekiciydi. Yine de kesit nedeni ile böyle bir görüntünün olabileceğini düşünerek tarafımızdan apoptotik olarak değerlendirmemek tercih edildi.

Sonuç olarak, bu çalışma bize sigara dumanı soluyan adolesan çağıdaki sıçanların testis dokusundaki spermatogenik hücrelerin leydig hücrelerine göre daha çok etkilendiğini, Leydig hücrelerinde elektron mikroskopik yapı olarak az da olsa değişikliklere sebep olduğunu, uzun süreli sigara kullanımının testis fonksiyonlarında bir azalmaya sebep olabileceğini gösterdi. Kurkuminin de muhtemelen antioksidan özelliğine bağlı olarak bu harabiyeti önleyebilme özelliğine sahip olduğu anlaşıldı.

KAYNAKLAR

1. Kierszenbaum AL, Çeviri Editörü: Demir R, *Histoloji ve Hücre Biyolojisi*, Palme Yayıncılık, 2006; 531-548.
2. Eroschenko VP, Çeviri Editörü: Demir R, *diFiore Histoloji Atlası* 10. Baskıdan Çeviri, Palme Yayıncılık 2011; 1351-361.
3. Computer Assisted Sperm Analysis (CASA) Group, Rat Sperm Morphological Assessment, Guideline Document, Edition 1, 2000; (Erişim 15.10.2011). www.irdg.co.uk/IRDG_spermmorphology.doc
4. Zalata AA, Ahmed AH, Allamaneni SSR, Comhaire FH, Agarwal A. Relationship between acrosin activity of human spermatozoa and oxidative stress. *Asian J Androl* 2004; 6: 313–8.
5. Yamamoto Y, Isoyama E, Sofikitis N, Miyagawa I. Effects of smoking on testicular function and fertilizing potential in rats. *Urol Res* 1998; 26(1):45-8.
6. Kapawa A, Giannakis D, Tsoukanelis K, Kanakas N, Baltogiannis D, Agapitos E, Loutradis D, Miyagawa I, Sofikitis N. Effects of paternal cigarette smoking on testicular function, sperm fertilizing capacity, embryonic development, and blastocyst capacity for implantation in rats. *Andrologia* 2004; 36(2):57-68.
7. Olatunji-Bello II, Olayemi SO, Daramola AO, Ogungbemi AO. Ascorbic acid and the effect of cigarette smoke on tissues--a preliminary report. *West Afr J Med* 2008; 27(2):78-81.
8. Sofikitis N, Miyagawa I, Dimitriadis D, Zavos P, Sikka S, Hellstrom W. Effects of smoking on testicular function, semen quality and sperm fertilizing capacity. *J Urol* 1995; 154(3):1030-4.
9. Zhang C, Liang C, Zhang DM, Bai YF, Wang YQ, Qi YC, An RH. Cigarette smoking affects cyclogeny of spermatogenic cells in rats. *Zhonghua Nan Ke Xue* 2009 ; 15(11):1007-13.
10. Aggarwal BB, Sundaram, C, Malani N, Ichikawa H. Curcumin: The Indian solid gold. *Adv Exp Med Biol* 2007; 595: 1–75.
11. Aggarwal BB, Kumar A, Bharti AC. Anticancer Potential of Curcumin: Preclinical and Clinical Studies. *Anticancer Research* 2003; 23: 363-398.
12. Sahin Kavaklı H, Koca C, Alıcı O. Antioxidant effects of curcumin in spinal cord injury in rats. *Ulus Travma Acil Cerrahi Dergisi* 2011; 17(1):14-8.

13. Singh R, Sharma P. Hepatoprotective Effect of Curcumin on Lindane-induced Oxidative Stress in Male Wistar Rats. *Toxicol Int* 2011; 18(2):124-9.
14. Karbalay-Doust S, Noorafshan A. Ameliorative effects of curcumin on the spermatozoon tail length, count, motility and testosterone serum level in metronidazole-treated mice. *Prague Med Rep* 2011; 112(4):288-97.
15. Jacob SW, Rosenbaum EE. The toxicology of dimethyl sulfoxide (DMSO). *Headache* 1966; 6(3):127-36.
16. Han YK, Lee SH, Jeong HJ, Kim MS, Yoon MH, Kim WM. Analgesic effects of intrathecal curcumin in the rat formalin test. *Korean J Pain* 2012; 25(1):1-6.
17. Seçkin İ. ve ark, *Özel Histoloji Ders Kitabı*. İstanbul: İstanbul Üniversitesi Yayınları, 155-172, 2008.
18. Reproductive system, human: male structure. Encyclopedia Britannica Online. (Erişim tarihi 16.05.2013), <http://www.britannica.com/EBchecked/media/48173/Organs-of-the-male-reproductive-system>
19. Seçkin İ. ve ark, *Embriyoloji Ders Kitabı*. İstanbul: İstanbul Üniversitesi Yayınları, 2008; 229-260,.
20. Kayalı H, *İnsan Embriyolojisi*, Ankara: Atlas Tıp Kitapçılık, 1987; 231-241,.
21. Male reproductive system. (Erişim tarihi 16.05.2013), <http://instruction.cvhs.okstate.edu/histology/mr/himrp2.htm>
22. Kianifard D., Sadrkhanlou RA, Hasanzadeh S. The ultrastructural changes of the Sertoli and Leydig cells following streptozotocin induced diabetes. *Iran J Basic Med Sci* 2012;15(1):623-35.
23. Shiratsuchi A, Osaday Y, Nakashi Y, Differences in the mode of phagocytosis of bacteria between macrophages and testicular Sertoli cells. *Drug Discov Ther* 2013;7(2):73-7.
24. Kondarewicz A., Kolasa A, Zawislak B, Baranowska-Bosiacka I, Marchlewicz M, Wenda-Rózewicka L, Wiszniewska B. Testis morphology in rats chronically treated with letrozole, an aromatase inhibitor. *Folia Histochem Cytobiol* 2011; 49(4):677-84.
25. Butler CM, Shaw G, Clark J, Renfree MB. The functional development of Leydig cells in a marsupial. *J Anat* 2008; 212(1):55-66.
26. Nagano T, Otsuki I. Reinvestigation of the fine structure of reinke's crystal in the human testicular interstitial cell. *J Cell Biol* 1971;51(1):148-61.

27. Li WR, Chen L, Chang ZJ, Xin H, Liu T, Zhang YQ, Li GY, Zhou F, Gong YQ, Gao ZZ, Xin ZC. Autophagic deficiency is related to steroidogenic decline in aged rat Leydig cells. *Asian J Androl* 2011;13(6):881-8.
28. Kurusu S, Sapirstein A, Sawada H, Kawaminami M, Bonventre JV. Group IVA phospholipase A2 regulates testosterone biosynthesis by murine Leydig cells and is required for timely sexual maturation. *Biochem J* 2011; 439(3):403-11.
29. Bergeron F, Bagu ET, Tremblay JJ. Transcription of platelet-derived growth factor receptor α in Leydig cells involves specificity protein 1 and 3. *J Mol Endocrinol* 2011; 23;46(2):125-38.
30. Luo DY, Yang G, Liu JJ, Yang YR, Dong Q. Effects of varicocele on testosterone, apoptosis and expression of StAR mRNA in rat Leydig cells. *Asian J Androl* 2011; 13(2):287-91.
31. Junqueira LC, Carneiro J, Çeviri Editörleri: Aytekin Y, Solakoğlu S, *Temel Histoloji*, 10th Edition, Nobel Tıp Kitapevi, 2006, 431-447.
32. Cheng YH, Wong EW, Cheng CY. Cancer/testis (CT) antigens, carcinogenesis and spermatogenesis. *Spermatogenesis* 2011; 1(3):209-220.
33. Sadler TW, Çeviri editörü: Başaklar C. *Langman Medikal Embriyoloji*, 9. Baskıdan Çeviri, Palme Yayıncılık, 2005, 26-30.
34. Wu Y, Chen X, Wang S, Jiang M, Zheng B, Zhou Q, Bi Y, Zhou Z, Huang X, Sha J. Flotillin-2 is an acrosome-related protein involved in mouse spermiogenesis. *J Biomed Res* 2012; 26(4): 278–287.
35. Scott F. Gilbert, *Gelişim Biyolojisi*, Çeviri editörleri: Erkan M, İrez T, 9. Baskıdan Çeviri, Nobel Tıp Kitabevleri, 121-125, 2013.
36. Ross MH. *Histology A Text And Atlas. 6th ed.* Pennsylvania-USA: Lippincott Williams and Wilkins, 2003
37. Ratnam DV., Ankola DD, Bhardwaj V, Sahana DK, Kumar MN. Role of antioxidants in prophylaxis and therapy: A Pharmaceutical Perspective. *J Control Release* 2006; 113(3):189-207.
38. Harman D. Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry. *J Gerontol* 1956; 11(3):298-300.
39. Sastre J, Pallardó FV, Viña J. Mitochondrial oxidative stress plays a key role in aging and apoptosis. *IUBMB Life* 2000; 49(5):427-35.

40. Boveris A, Chance B. The mitochondrial generation of hydrogen peroxide. General properties and effect of hyperbaric oxygen. *Biochem J* 1973; 134(3): 707–716.
41. Davies KJ. Oxidative stress: the paradox of aerobic life. *Biochem Soc Symp* 1995;61:1-31.
42. Helmut S. Physiological society symposium: Impaired endothelial and smooth muscle cell function in oxidative stress: Oxidants and antioxidants. *Experimental Physiology* 1997; 82,291-295.
43. Menon VP, Sudheer AR. Antioxidant and anti-inflammatory properties of curcumin. *Adv Exp Med Biol* 2007; 595:105-25.
44. Cemeli E, Baumgartner A, Anderson D. Antioxidants and the Comet assay. *Mutat Res* 2009; 681(1):51-67.
45. World Health Organization, Fact Sheet No:339, (Erişim 04.05.2013), <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs339/en/index.html>.
46. Dechanet C, Anahory T, Mathieu Daude JC, Quantin X, Reyftmann L, Hamamah S, Hedon B, Dechaud H. Effects of cigarette smoking on reproduction. *Hum Reprod* 2011; 17(1):76-95.
47. Ozan E, Sonmez MF, Ozan S, Colakoglu N, Yilmaz S, Kuloglu T. Effects of melatonin and vitamin C on cigarette smoke-induced damage in the kidney. *Toxicol Ind Health* 2007; 23(8):479-85.
48. Gaur DS, Talekar MS, Pathak VP. Alcohol intake and cigarette smoking: impact of two major lifestyle factors on male fertility. *Indian J Pathol Microbiol* 2010; 53(1):35-40.
49. Mohamed M, Sulaiman SA, Jaafar H, Sirajudeen KN. Antioxidant protective effect of honey in cigarette smoke-induced testicular damage in rats. *Int J Mol Sci* 2011; 12(9):5508-21.
50. Araújo CC, Leon LL. Biological activities of *Curcuma longa* L. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2001; 96(5):723-8.
51. Jomezadeh V, Mohammadpour AH, Rajabi O, Tavassoli A, Maddah G. Evaluation of Curcumin Effects on Post-Operative Peritoneal Adhesion in Rats. *Iran J Basic Med Sci* 2012; 15(6): 1162–1167.
52. Hammad FT, Al-Salam S, Lubbad. Curcumin provides incomplete protection of the kidney in ischemia reperfusion injury. *Physiol Res* 2012; 14;61(5):503-11

53. Hatcher R, Planalp J, Chob F, M Tortia, Tortic SV. Review Curcumin: From ancient medicine to current clinical trials H. *Cell. Mol. Life Sci* 2008; (65), 1631 – 1652.
54. Milobedzka J, Kostanecki S, Lampe V. Curcumin. *Ber. Dtsch. Chem. Ges* 1910; 43, 2163–70.
55. Peter J. and Donald A. Roughley Experiments in the biosynthesis of curcumin. *Whiting J. Chem. Soc* 1973; 2379-238.
56. Balasubramanyam M, Koteswari AA, Kumar RS, Monickaraj SF, Maheswari JU, Mohan V. Curcumin-induced inhibition of cellular reactive oxygen species generation: novel therapeutic implications. *J Biosci* 2003; 28(6):715-21.
57. Ilbey YO, Ozbek E, Cekmen M, Simsek A, Otunctemur A, Somay A. Protective effect of curcumin in cisplatin-induced oxidative injury in rat testis: mitogen-activated protein kinase and nuclear factor-kappa B signaling pathways. *Hum Reprod* 2009; 24(7):1717-25.
58. Sahoo DK, Roy A, Chainy GB. Protective effects of vitamin E and curcumin on L-thyroxine-induced rat testicular oxidative stress. *Chem Biol Interact* 2008; 176(2-3):121-8.
59. Duvoix A, Blasius R, Delhalle S, Schnekenburger M, Morceau F, Henry E, Dicato M, Diederich M. Mini-review Chemopreventive and therapeutic effects of curcumin *Cancer Letters* 223, 2005; 181–190.
60. Cine N, Limtrakul P, Sunnetci D, Nagy B, Savli H. Effects of curcumin on global gene expression profiles in the highly invasive human breast carcinoma cell line MDA-MB 231: A gene network-based microarray analysis. *Exp Ther Med* 2013; 5(1):23-27.
61. Aggarwal BB, Shishodia S. Molecular targets of dietary agents for prevention and therapy of cancer. *Biochem Pharmacol* 2006; 71(10):1397-421.
62. Menon VP, Sudheer AR. Antioxidant and anti-inflammatory properties of curcumin. *Adv Exp Med Biol* 2007; 595:105-25.
63. Padmaja S, Raju TN. Antioxidant effect of curcumin in selenium induced cataract of Wistar rats. *Indian J Exp Biol* 2004; 42(6):601-3.
64. Agarwal R, Goel SK, Behari JR. Detoxification and antioxidant effects of curcumin in rats experimentally exposed to mercury. *J Appl Toxicol* 2010; 30(5):457-68.

65. Phillips J, Moore-Medlin T, Sonavane K, Ekshyyan O, McLarty J, Nathan CA. Curcumin Inhibits UV Radiation-Induced Skin Cancer in SKH-1 Mice. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2013; 148(5):797-803.
66. Lev-Ari S, Starr A, Vexler A, Karaush V, Loew V, Greif J, Fenig E, Aderka D, Ben-Yosef R. Inhibition of pancreatic and lung adenocarcinoma cell survival by curcumin is associated with increased apoptosis, down-regulation of COX-2 and EGFR and inhibition of Erk1/2 activity. *Anticancer Res* 2006; 26(6B):4423-30.
67. Choudhuri T, Pal S, Aggarwal ML, Das T, Sa G. Curcumin induces apoptosis in human breast cancer cells through p53-dependent Bax induction. *FEBS Lett* 2002; 512(1-3):334-40.
68. Sinha D, Biswas J, Sung B, Aggarwal BB, Bishayee A. Chemopreventive and chemotherapeutic potential of curcumin in breast cancer. *Curr Drug Targets* 2012; 13(14):1799-819.
69. Kuhar M, Imran S, Singh N. Curcumin and Quercetin Combined with Cisplatin to Induce Apoptosis in Human Laryngeal Carcinoma Hep-2 Cells through the Mitochondrial Pathway. *Journal of Cancer Molecules* 2007; 3(4): 121-128.
70. Sharmila Shankar, Qinghe Chen, Krishna Sarva, Imtiaz Siddiqui, and Rakesh K Srivastava. Curcumin enhances the apoptosis-inducing potential of TRAIL in prostate cancer cells: molecular mechanisms of apoptosis, migration and angiogenesis. *J Mol Signal* 2007; 2: 10.
71. Huang MT, Lou YR, Ma W, Newmark HL, Reuhl KR, Conney AH. Inhibitory effects of dietary curcumin on forestomach, duodenal, and colon carcinogenesis in mice. *Cancer Res* 1994; 54(22):5841-7.
72. Limtrakul P, Lipigorngoson S, Namwong O, Apisariyakul A, Dunn F.W. Inhibitory effect of dietary curcumin on skin carcinogenesis in mice. *Cancer Letters* 1997; 116, 2, 197-203.
73. Chuang SE, Kuo ML, Hsu CH, Chen CR, Lin JK, Lai GM, Hsieh CY, Cheng AL. Curcumin-containing diet inhibits diethylnitrosamine-induced murine hepatocarcinogenesis. *Carcinogenesis* 2000; 21(2):331-5.
74. Moragoda L, Jaszewski R, Majumdar AP. Curcumin induced modulation of cell cycle and apoptosis in gastric and colon cancer cells. *Anticancer Res* 2001; 21(2A):873-8.

75. Curcuma Longa 1995-2004 Missouri Botanical Garden, (Erişim 04.07.2013) <http://ridgwaydb.mobot.org/mobot/rarebook>.
76. Akram H., Pakdel FG., Ahmadi A, Zare S, Beneficial Effects of American Ginseng on Epididymal Sperm Analyses in Cyclophosphamide Treated Rats. *Cell J* 2012; 14(2): 116–121.
77. Oyeyemi MO, Oluwatoyin O, Ajala Leigh OO, Adesiji T. The spermiogram of male wistar albino rats treated with aqueous leaf extract of Vernonia amygdalina. *Folia Veterinaria*. 2008; 52,2: 98-101.
78. Taib SI, Budin SB, Ghazali AR, PA, Louis SR, and Mohamed J. Fenitrothion induced oxidative stress and morphological alterations of sperm and testes in male sprague-dawley rats. *Clinics* 2013; 68(1): 93–100.
79. Farias JG, Puebla M, Acevedo A, Tapia PJ, Gutierrez E, Zepeda A, Calaf G, Juantok C, Reyes JG. Oxidative stress in rat testis and epididymis under intermittent hypobaric hypoxia: protective role of ascorbate supplementation. *J Androl* 2010; 31(3): 314-21.
80. Manafi M. *Artificial insemination in farm animals*. 2011, Chapter 9, Intech.
81. Canadian Mouse mutant repository. Post-thaw sperm evaluation. (Erişim 04.07.2013), http://www.cmmr.ca/protocols/post_thaw.pdf.
82. Pekmez H, Kuř H, Çolakođlu N, Özyurt H, Zararsız İ, Sarsılmaz M. Sıçan testisinde sigara maruziyeti ile oluşan histolojik değişiklikler üzerine kafeik asit fenetil ester (CAPE)'in koruyucu etkisi. *S.Ü. Tıp Fak. Derg* 2004; 20: 1-5.
83. Mathuria N, Verma RJ. Curcumin ameliorates aflatoxin-induced toxicity in mice spermatozoa. *Fertil Steril* 2008; 90(3): 775-80.
84. Salama AF, El-Bahr SM. Effect of curcumin on cadmium-induced oxidative testicular damage in rats. *JMRI* 2007; 28,2: 167-73.

ETİK KURUL KARARI



T.C
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU



Sayı: 2011/ 169

29 / 12/ 2011

Sn: Prof. Dr. Faruk ALKAN
İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi

Karar No : 2011/ 169
Başvuru :23.12.2011

Sorumluluğunu üstlendiğiniz, Moleküler Biyolog Aslı GÜMÜŞEL'e ait "Adolesan Çağdaki Sıçanların Sigara Dumanına Maruz Bırakılmasıyla, Sıçan Epididiminin Kuyruk Kısmından Alınan Sperm Miktarında Ve Morfolojisinde Meydana Gelen Değişikliklerin Mikroskopik İncelenmesi Ve Kurkumin Antioksidanının Bu Değişikliklere Etkisinin Değerlendirilmesi" isimli projeniz Kurulumuz tarafından incelenmiş ve Etik Kurul ilkelerine uygun bulunmuştur.

Prof. Dr. Alev AKDOĞAN KAYMAZ
İ.Ü.HADYEK Başkanı

Prof. Dr. Mehmet YALTIRIK
Üye

Prof. Dr. Pınar YAMANTÜRK ÇELİK
Üye

Doç.Dr.Ufuk ÇAKATAY
Üye

Yard.Doç.Dr.Alper OKYAR
Üye

Yard.Doç.Dr Altan ARMUTAK
Üye

Uzm.Vet.Hek.Fatma TEKELİ
Üye

Avukat Selma DEMİR
Üye

Mak.Yük.Müh. Dr.Burak OLGUN
Üye

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Aslı	Soyadı	Gümüşel
Doğ.Yeri	İstanbul	Doğ.Tar.	09/09/1986
Uyruğu	T.C.	TC Kim No	54910057012
Email	ang0986@gmail.com	Tel	05314689238

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
Doktora		
Yük.Lis.	İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji A.D.	2013
Lisans	TC Haliç Üniversitesi - Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü	2009
Lise	Bahçeşehir Atatürk Süper Lisesi	2004

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1.			-
2.			-
3.			-

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*	KPDS/ÜDS Puanı	(Diğer) Puanı
İngilizce	iyi	iyi	Çok iyi	61,25	50

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
LES Puanı	69,38350	69,19094	60,98008
(Diğer) Puanı	85.082	80.920	83.673

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
MS Office	Çok iyi

Yayınları/Tebliğleri Sertifikaları/Ödülleri

29.05.2008-01.06.2008 :İnsan Embriyonik Kök Hücreleri Uygulamalı Kursu

21.05.2012-01.06.2012 :Hayvan Deneyler Yerel Etik Kururlu Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası Kursu

ULUSLARARASI BİLDİRİLER

1.Gumusel, A; Basar, M; Yaprak, E; Aslan, E; Arda, O; Ilvan, S; Kayisli, U and Guzel E. The regulation of mitogen-activated protein kinase kinasesin endometrial cycle. 1 to 4 July 2012. 28th Annual Meeting of ESHRE (İstanbul)

ULUSAL BİLDİRİLER

1. Emine Elif Güzel, Aslı Gümüşel, Murat Başar, Elif Yaprak, Esra Aslan, Oktay Arda, Şennur İlvan, Ümit Kayışlı. ‘Endometriyumun Döngüsel Değişiklikleri Üzerine MAPK Sinyal Yolağı Aracılı Etki’ başlıklı poster bildirisi. Uluslararası Katılımlı XI. Ulusal Histoloji ve Embriyoloji Kongresi 16-19 Mayıs 2012 (Denizli)

2. İsmail Seçkin, Mümin Uzunalan, Meltem Pekpak, Sibel Köktürk, Bülent Uruluer, Hüseyin Sönmez, Zeynep Öztürk, Elif Yaprak, Aslı Gümüşel, Sibel Demirci. Deneysel Kronik Puromisin Nefroz Uyarılı Sıçan Glomerüllerinde TGF- β 1 Ekspresyonu ve Mezengiumdaki değişiklikler’ başlıklı poster bildirisi. Uluslararası Katılımlı XI. Ulusal Histoloji ve Embriyoloji Kongresi 16-19 Mayıs 2012 (Denizli)

3. Nihal Koç, Murat Mengi, Erengül Tokay, Aslı Gümüşel, Halil Tunalı. Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı oluşturulmuş deneysel sıçan modelinde endoplazmik retikulum stresi, GRP78 ve Defibrotid’in etkisi. 6-10 Ekim 2012 Türkiye Solunum Araştırmaları Derneği 34. Ulusal Kongresi (İzmir)

Özel İlgi Alanları (Hobileri): Tango, Yüzme, Spor.