

T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HİSTOLOJİ ve EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

SIÇAN TESTİS DOKUSUNDA KADMİYUM İLE
OLUŞTURULAN HASAR ÜZERİNE ETİL PİRÜVATIN
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Tezi Hazırlayan
Ayça KARA

Tezi Yöneten
Doç.Dr. Mehmet Fatih SÖNMEZ

Ağustos 2012
KAYSERİ

**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HİSTOLOJİ-EMBRYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**SIÇAN TESTİS DOKUSUNDA KADMIYUM İLE
OLUŞTURULAN HASAR ÜZERİNE ETİL PİRÜVATIN
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**Tezi Hazırlayan
Ayça KARA**

**Tezi Yöneten
Doç.Dr. Mehmet Fatih SÖNMEZ**

Yüksek Lisans Tezi

**Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından
TSY-11-3506 nolu proje ile desteklenmiştir.**

**Ağustos 2012
KAYSERİ**

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

Bu çalışmadaki tüm bilgilerin, akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda bu kural ve davranışların gerektirdiği gibi, bu çalışmanın özünde olmayan tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı ve referans gösterdiğimi belirtirim.

Adı-Soyadı:

İmza:

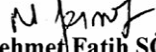
YÖNERGEYE UYGUNLUK ONAYI

“Sıçan Testis Dokusunda Kadmiyum İle Oluşturulan Hasar Üzerine Etil Pirüvatın Etkilerinin Araştırılması” adlı Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi’ne uygun olarak hazırlanmıştır.

Tezi Hazırlayan

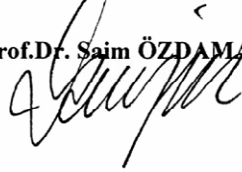

Ayça KARA

Danışman


Doç.Dr. Mehmet Fatih SÖNMEZ

Anabilim Dalı Başkanı

Prof.Dr. Saim ÖZDAMAR



Doç.Dr. Mehmet Fatih SÖNMEZ danışmanlığında **Ayça KARA** tarafından hazırlanan “**Sıçan Testis Dokusunda Kadmiyum İle Oluşturulan Hasar Üzerine Etil Pirüvatın Etkilerinin Araştırılması**” konulu bu çalışma, jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimler Enstitüsü **Histoloji Ve Embriyoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisans** tezi olarak kabul edilmiştir.

..... / / 2012

JÜRİ

İmza

Danışman : Doç. Dr. M. Fatih SÖNMEZ (Histoloji Embriyoloji AD)

Üye : Prof. Dr. Birkan YAKAN (Histoloji Embriyoloji AD)

Üye : Yrd. Doç. Dr. Tolga ERTEKİN (Anatomi AD)

ONAY

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulununtarih ve.....sayılı kararı ile onaylanmıştır.

...../...../.....

Prof.Dr. Saim ÖZDAMAR
Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Yapmış olduğum bu çalışmada verdiği destek ve emekten dolayı tez danışmanım Doç. Dr. Mehmet Fatih SÖNMEZ'e ve bilgilerinden faydalandığım Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Saim ÖZDAMAR, Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. BirkanYAKAN'a, Öğretim Görevlisi Arzu YAY'a, bölüm arkadaşlarım Derya AKKUŞ, Nurhan KULOĞLU, Dilek TÜRKÖZ'e, her zaman yanımda olan desteğini esirgemeyen anneme, babama, kardeşim Ayla'ya ve Hamdi LEKESİZCAN'a teşekkürlerimi sunarım.

SIÇAN TESTİS DOKUSUNDA KADMIYUM İLE OLUŞTURULAN HASAR ÜZERİNE ETİL PİRÜVATIN ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Ayça KARA

Erciyes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı

Yüksek Lisans Tezi, Ağustos 2012

Danışman: Doç.Dr. Mehmet Fatih SÖNMEZ

ÖZET

Kadmiyum insanlarda ve diğer memelilerde böbrek, karaciğer, akciğer, pankreas, testis ve plasenta gibi çoğu organı olumsuz etkileyen endüstriyel ve çevresel bir kirleticidir. Piruvat önemli bir metabolik ara üründür ve aynı zamanda hidrojen peroksit ve diğer ROS'ların etkili bir temizleyicisidir. Etil piruvat endojen metaboliti olan pirüvik asitin basit bir türevidir ve piruvat gibi reaktif oksijen radikalleri (ROS) temizleyicisidir. Biz bu çalışmada kadmiyum ile testis dokusunda oluşturulan hasar üzerine etil pirüvatın koruyucu etkisini araştırmayı amaçladık. Bu çalışmada 32 adet ergin erkek Wistar albino türü sıçanlar kullanıldı. Denekler rastgele 4 gruba ayrıldı. Grup I; (n=8) kontrol grubu, Grup II; (n=8) 2,5 mg/kg kadmiyum (intraperitoneal) uygulanan grup, Grup III; (n=8) 2,5 mg/kg kadmiyum + 100 mg/kg etil pirüvat (intraperitoneal) uygulanan grup, Grup IV; (n=8) 100 mg/kg etil pirüvat (intraperitoneal), uygulanarak oluşturuldu. Yirmi dört saat arayla iki doz etil pirüvat uygulamasından 1 saat sonra 2 ve 3. gruplara kadmiyum uygulandı ve uygulamadan 24 saat sonra denekler dekapite edilerek testis dokuları alındı. Parafine gömülen örneklerden alınan kesit örnekleri incelendi ve değerlendirildi. Kadmiyum uygulanan grupta germinal epitelde düzensizlik, epitel hücreleri arasında vakuol oluşumu ve yer yer nekrotik tübüller gözlemlendi. Kadmiyum uygulanan grupta seminifer tübül çapları ve Johnsen'in tübül biyopsi skoru kontrol ile karşılaştırıldığında anlamlı derecede azalmış olarak belirlendi. Koruyucu amaçlı verilen etil pirüvat bu skorlarda anlamlı bir değişikliğe neden olmadı. Sonuç olarak kadmiyum uygulamasının testis dokusunda çok ciddi histopatolojik değişiklikler oluşturmakta olduğu ve koruyucu amaçlı verilen etil pirüvatın bu hasarda etkili bir şekilde iyileştirici etkisinin olmadığı gözlemlendi.

Anahtar Kelimeler: Kadmiyum, Etil Pirüvat, Testis, Sıçan.

**A RESEARCH ON EFFECTS OF ETHYL PYRUVATE ON RAT TESTICAL
TISSUES WHICH WAS DAMAGED WITH CADMIUM**

Ayça KARA

Erciyes University, Department of Histology and Embryoloji

MS Thesis, August 2012

Advisor: Doç.Dr. Mehmet Fatih SÖNMEZ

ABSTRACT

Cadmium is an industrial and environmental pollutant that affects adversely a number of organs in humans and other mammals, including the kidneys, liver, lungs, pancreas, testis, and placenta. Pyruvate is an important metabolic intermediate, and also is an effective scavenger of hydrogen peroxide and other Reactive oxygen species (ROS). Ethyl pyruvate is a simple derivative of the endogenous metabolite, pyruvic acid is also an ROS scavenger. In this study we established to investigate the protective effect of ethyl pyruvate on cadmium damage to testis tissue. In this study 32 adult male Wistar albino rats are used. Rats are separated into four random groups. Group 1; (n=8) control group, Group 2; (n=8) 2.5 mg/kg (intraperitoneal) cadmium administrated rats, Group 3; (n=8) 2.5 mg/kg cadmium + 100 mg/kg ethyl pyruvate (intraperitoneal) was administrated, Group 4; (n=8) 100 mg/kg ethyl pyruvate (intraperitoneal) was administrated. Within 24 hours administered 2 doses of ethyl pyruvate. Cadmium were application 1 hour after administration of ethyl pyruvate groups 2 and 3 and all the subjects are killed by decapitation 24 hour after. Testes of samples are taken and identified and it was buried into paraffine. Section examples which was buried into paraffine is analysed and reviewed. Germinal epithelium irregularities, epithelial cell loss in lumen, formation of the vacuoles between epithelial cells and necrotic tubules was observed to applied cadmium in the group. The diameters of seminiferous tubules and tubular biopsy score of Johnsen compared to control group; significantly decreased. These scores was the same by the ethyl pyruvate for protective purposes. As a result of application of cadmium create a very serious changes on testicular tissue and the the ethyl pyruvate for protective purposes is not prevent this damage.

Key Words: Cadmium, Ethyl Pyruvate, Testis, Rat.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK	i
YÖNERGEYE UYGUNLUK ONAYI	ii
ONAY	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
ÖZET	v
ABSTRACT.....	vi
İÇİNDEKİLER	viii
KISALTMALAR	x
ŞEKİL LİSTESİ	xi
TABLO LİSTESİ	xiii
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. TESTİS EMBRİYOLOJİSİ.....	3
2.2. TESTİS ANATOMİSİ.....	6
2.3. TESTİS HİSTOLOJİSİ	9
2.3.1. Seminifer Tübüller	10
2.3.1.1. Sertoli Hücreleri	11
2.3.1.2. Spermatojenik Hücreler.....	13
2.3.1.3. Spermasitogenez ve Mayoz Evresi.....	13
2.3.1.4.Spermiyogenez	14
2.3.2. İnterstisyel Alan	15
2.4. KADMİYUM.....	16
2.4.1. Kadmiyumun Çevreye Etkisi	16
2.4.2. Kadmiyum Toksisitesi.....	18
2.4.3. Kadmiyumun Organlar Üzerine Etkisi.....	20
2.5. ETİL PİRÜVAT.....	21
3. GEREÇ VE YÖNTEM	25
3.1 Deneysel Prosedür	25
3.2. Seminifer Tübül Çaplarının Ölçümü	27
3.3. Johnsen Testiküler Biyopsi Skoru	27
3.4. TUNEL Metodu.....	28
3.5. İstatistiksel analiz.....	29

4. BULGULAR.....	30
4.1. Işık Mikroskopik Bulgular	30
4.2. Seminifer Tübül Çapları Ölçüm Sonuçları.....	31
4.3. Johnsen Testiküler Biyopsi Skoru Sonuçları.....	31
4.4. TUNEL Değerlendirmesi.....	32
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	37
6. KAYNAKLAR	44
ÖZGEÇMİŞ	55

KISALTMALAR

DEKAM	:	Erciyes Üniversitesi Deneysel ve Klinik Araştırma Merkezi
IARC	:	Uluslararası Kanser Araştırma Merkezi
Cd	:	Kadmiyum
ROS	:	Reaktif Oksijen Radikalleri
O ₂ ⁻	:	Süperoksit
OH ⁻	:	Hidroksil
µg	:	Mikrogram
ml	:	Mililitre
mg	:	Miligram
kg	:	Kilogram
L	:	Litre
MT	:	Metallotionein
H ₂ O ₂	:	Hidrojen Peroksit
FDA	:	Amerikan Gıda ve İlaç Derneği
HE	:	Hemotoksilen-Eozin
DNA	:	Deoksiribonükleik asit
FSH	:	Folikül stimulan hormon
TDF	:	Testis belirleyici faktör
AMH	:	Anti Müllerian hormon
REPS	:	Ringerin Etil Pirüvat Solüsyonu
EP	:	Etil pirüvat
Zn ⁺²	:	Çinko
Cu ⁺²	:	Bakır
Ca ⁺²	:	Kalsiyum

İDO	:	2,3- dioksigenaz
ABP	:	Androjen bağlayıcı protein
TNF- α	:	Tümör nekrotizan faktör α
MIF	:	Makrofaj inhibe edici faktör
HMGB1	:	High Mobility Group Box1
NF κ β	:	Nükleer Faktör Kappa Beta
JTBS	:	Johnsen Testiküler Biyopsi Skoru
İNOS	:	Nitrik Oksit Sentaz
SOD	:	Süperoksit Dismutaz
CAT	:	Katalaz
GSH-Px	:	Glutatyon Peroksidaz
İMA	:	İskemik Serum Albumin
NAN	:	N-asetilsistein

ŞEKİLLER LİSTESİ**Sayfa No**

- Şekil 2.1:** A. 3 haftalık embriyoda yolk kesesi duvarında, allantois bağlantısına yakın bir yerde primordiyal germ hücrelerini gösteren şematik çizim. B. Primordiyal germ hücrelerinin, son bağırsak ve dorsal mezenter boyunca genital kıvrıma doğru göç yolu. (Langman's Medikal Embriyoloji'den alınmıştır) 4
- Şekil 2.2:** Testisin anatomisi (Sobotta Atlas of Human Anatomy) 7
- Şekil 2.3:** Testis ve üreme yollarını gösteren şematik çizim (Ross, Romrell, Histoloji. A Text and Atlas, 5th ed.'dan modifiye edilmiştir.) 9
- Şekil 2.4:** Bir seminifer tübülde Sertoli hücrelerinin yerleşimi, birbirleri ile bağlantıları ve gelişimin farklı dönemlerindeki spermatojenik hücreleri gösteren çizim (Ross, Romrell, Histology A Text and Atlas'tan). 11
- Şekil 4.1:** Kontrol grubuna ait sıçan testis dokusu. Seminifer tübüllerdeki germinal epitel (GE) normal olarak gözlenmekte (H&E). 32
- Şekil 4.2:** Sadece etil pirüvat verilen gruba (Grup IV) ait testis dokusu. Seminifer tübüller normal olarak gözlenmekte. Germinal epitel (GE), lümen (L) (H&E). 33
- Şekil 4.3:** Sadece kadmiyum uygulanan gruba (Grup II) ait testis dokusu. Seminifer tübül epitelinde hücreler arasında vakuol oluşumu görülmekte (*) (H&E). 33
- Şekil 4.4:** Sadece kadmiyum uygulanan gruba (Grup II) ait testis dokusu. Seminifer tübüllerde nekrotik görünüm (NT) (H&E). 34
- Şekil 4.5:** Sadece kadmiyum uygulanan gruba (Grup II) ait testis dokusu. Damarlarda konjesyon (*), hemoroji (H), seminifer tübül germinal epitelinde düzensizlik ve epitel hücreleri arasında vakuol oluşumu (ok) görülmekte (H&E). 34
- Şekil 4.6:** Sadece kadmiyum uygulanan gruba (Grup II) ait testis dokusu. Seminifer tübül germinal epitelinde düzensizlik (ok) ve epitel hücreleri arasında vakuol oluşumu (*) görülmekte (H&E). 35
- Şekil 4.7:** Kadmiyumla birlikte etil pirüvat uygulanan gruba (Grup III) ait testis dokusu. Damarlarda konjesyon (K), seminifer tübül germinal epitelinde düzensizlik (ok) ve epitel hücreleri arasında vakuol oluşumu (*) görülmekte edilmekte (H&E). 35
- Şekil 4.8:** Sadece kadmiyum uygulanan gruba (Grup II) ait testis dokusu. Seminifer tübüllerdeki germinal epitelde apopitotik hücreler (ok). 36

TABLÖLAR LİSTESİ**Sayfa No**

Tablo 3.1:	Işık Mikroskobu Doku Hazırlama Tekniği	26
Tablo 3.2:	Hematoksilen-Eozin Boyama Tekniği	26
Tablo 3.3:	Masson'un Üçlü Boyama Tekniği	27
Tablo 3.4:	Johnsen Testiküler Biyopsi Skorlaması	28
Tablo 4.1:	Seminifer tüböl çapı ölçüm sonuçları. Değerler ortalama \pm standart sapma olarak verilmiştir. * Grup I ile karşılaştırıldığında $p < 0.05$	31
Tablo 4.2:	Johnsen Testiküler Biyopsi Sonuçları. Değerler ortalama \pm standart sapma olarak verilmiştir. * Grup I ile karşılaştırıldığında $p < 0.05$	31
Tablo 4.3:	Apopitotik Hücre Sayım Sonuçları. Değerler ortalama \pm standart sapma olarak verilmiştir. * Grup I ile karşılaştırıldığında $p < 0.001$; ** Grup II ile karşılaştırıldığında $p < 0.001$.	32

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Kadmiyum birçok insan aktivitesi ile çevremizde açığa çıkan bir metaldir (1). Doğada yayılma hızı yüksektir ve insan yaşamı için gerekli elementlerden biri değildir. Suda çözünebilir özelliğinden dolayı Cd^{+2} halinde bitki ve deniz canlıları tarafından biyolojik sistemlere alınır. Kadmiyumun canlılar üzerindeki toksik etkilerinin mekanizması günümüzde hala tartışmalı olup yoğun olarak araştırılmaktadır. Tarım sektöründe yaygın ve kontrolsüz sentetik gübre kullanımı ve bunun yanı sıra seracılıkla üretilen sebze ve meyvelerin, kadmiyumla kirlenmiş topraklarda yetişen tahılların, sanayi ve diğer atıklarla kirlenen sularda beslenen su ürünlerinin, kadmiyumla kirlenmiş içme sularının, memeli hayvanların karaciğer, böbrek gibi iç organlarının tüketimi, hava kirliliği, kahve, çay, kömür yakılması, yüksek sigara bağımlılığı oranı ve buna bağlı yüksek oranda pasif içicilik göz önüne alındığında insan sağlığı hem gıdalarla hem de solunum yoluyla büyük ölçüde kadmiyum toksisitesi tehdidi altındadır (2, 3).

Ağır metaller gibi birçok stres oluşturucu faktörler organizmada oksidatif strese neden olarak superoksit (O_2^-), hidroksil (OH^-), nitrik oksit (NO) ve hidrojen peroksit (H_2O_2) gibi serbest oksijen radikallerinin (ROS) açığa çıkmasına, özellikle membran lipidlerinde peroksidasyona, antioksidan savunma sisteminin bozulmasına, proinflamatuvar sitokinlerin sentezine bağlı yangının ortaya çıkmasına, protein yapı bozukluklarına, nükleik asitlerin oksidasyonuna ve DNA tamir mekanizmasının olumsuz yönde etkilenmesine neden olur. Kadmiyum, ROS türlerinin üretimine doğrudan olmasa da dolaylı olarak katkıda bulunan çok kuvvetli toksik bir metaldir (4).

Pirüvat ve etanolden sentezlenen etil pirüvat, kalsiyum ve potasyum ile etkileşim içinde Ringer'in etil pirüvat solüsyonunda (REPS) stabildir (5). Kalsiyum ve potasyum içeren dengeli solüsyonda stabil olmasının yanında aynı zamanda toksik değildir (6). Etil pirüvatın endojen metabolitlere yakın benzerliği, hayvanlarda güvenli profilleri göz önüne alındığında insanlara zararlı olması muhtemel değildir. Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi'nin (FDA) genel olarak güvenli bileşikler listesindedir (7). Etil pirüvat, birçok çalışmada gösterilmiş antioksidan ve antiinflamatuvar etkilere sahiptir (8).

Bu çalışmanın amacı, testislerdeki kadmiyumun oluşturduğu hasar üzerine intraperitoneal uygulanan etil pirüvatın koruyucu etkisinin olup olmadığının ışık mikroskopik olarak belirlenmesidir.

2. GENEL BİLGİLER

Erkek üreme sistemi testisler, testis içi ve dışı genital kanallar, yardımcı bezler ve penisten oluşur. Genital kanal sistemi tubuli rekti, rete testis, duktuli efferentes, duktus epididimisi, duktus deferens ve duktus ejakulatoryusu içerir. Yardımcı bezler ise seminal vezikül, prostat ve bulboüretal bezlerdir (9).

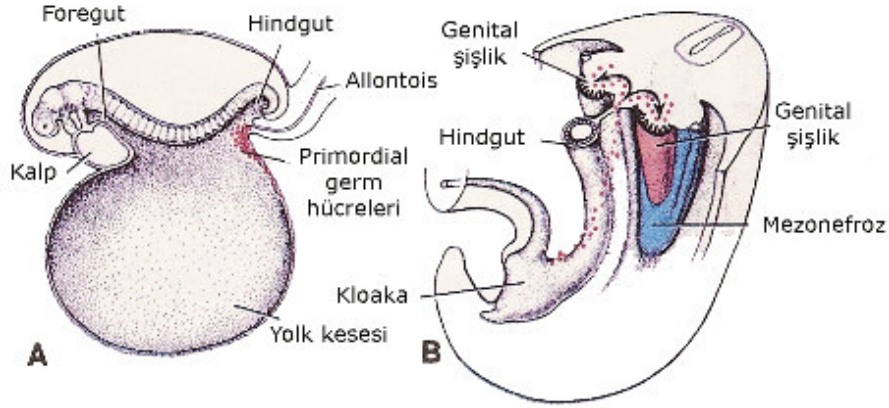
2.1. TESTİS EMBRİYOLOJİSİ

Embriyonun cinsiyeti genetik açıdan fertilizasyon sırasında belirlenmiş olmasına rağmen, gelişimin 7. haftasına kadar gonadlar, erkek veya dişi morfolojik özelliklerine sahip değildirler (10).

Gonadlar üç kaynaktan köken alırlar:

- Posterior abdominal duvarı döşeyen mezotel (mezodermal epitel),
- Altındaki mezenşim (embriyonik bağ dokusu),
- Primordiyal germ hücreleri.

Gonadal gelişimin ilk safhaları 5. haftada ortaya çıkar, mezonefrozun medialinde, mezotelde bir kalınlaşma meydana gelir. Bu epitelin ve altındaki mezenşimin proliferasyonu ile mezonefrozun medialinde gonadal kabartı oluşur. Parmak şeklindeki epitelyal kordonlar gonodal kordonlar altındaki mezenşim içerisine doğru kısa sürede büyürler. Farklanmamış gonad bu halde, dışta yer alan bir korteks ve içte yer alan bir medulladan oluşur (11).



Şekil 2.1: A. 3 haftalık embriyoda yolk kesesi duvarında, allantois bağlantısına yakın bir yerde primordiyal germ hücrelerini gösteren şematik çizim. B. Primordiyal germ hücrelerinin, son barsak ve dorsal mezenter boyunca genital kıvrıma doğru göç yolu. (Langman's Medikal Embriyoloji'den alınmıştır.)

Primordiyal germ hücreleri, gelişimin erken evrelerinde yolk kesesinden allantoise yakın duvarındaki endoderm hücreleri arasında belirirler. Son bağırsağın mezenterlerinin dorsali boyunca ameboid hareketlerle ilerleyerek 5. haftanın başında primitif gonadlara ulaşır, 6.haftada da genital sırtları işgal ederler. Bu hücreler genital sırtlara ulaşamadıkları takdirde gonadlar gelişemez. Gonadların over veya testise farklılaşmasında primordiyal germ hücrelerinin indükleyici etkisi vardır.

Primordiyal germ hücrelerinin primitif gonadlara ulaşmasından hemen önce ve ulaşması sırasında, genital sırtın epiteli proliferer olur ve epitel hücreleri altlarındaki mezenşim içine gömülürler. Bunlar burada primitif cinsiyet kordonları denilen düzensiz şekilli kordonları oluştururlar. Hem erkek hem de dişi embriyolarda bu kordonlar yüzey epiteline bağlıdır ve bu dönemde erkek veya dişi gonadların birbirinden ayırt edilebilmesi mümkün değildir. Bu devredeki gonad farklılaşmamış gonad olarak adlandırılır (10).

En başta erkek ve dişi embriyoların ikisinde birden mezonefrik ve paramezonefrik olmak üzere iki çift genital kanal vardır (10). Mezonefrik kanallar erkek üreme

sisteminin gelişiminde önemli yer tutarken paramezonefrik kanallar dışı üreme sisteminin gelişiminde rol oynamaktadır (11).

Testisin gelişimi üzerinde en temel rolü oynayan Y kromozomunun cinsiyet belirleyici (SRY) geni gonadal sırtı doğrudan, mezonefrik kanalları da dolaylı şekilde etkilemektedir. SRY geni testisten mezonefrik kanal tübüllerinin gonadal sırtı penetre edebilmesini ve testislerin daha ileri gelişimini sağlayan kemotaktik bir madde salgılamaları için uyarmaktadır. Bu tübüller genital sırtı penetre edemedikleri takdirde testisin gelişmesi mümkün değildir. Sertoli hücreleri tarafından salgılanan antimüllerian hormon da (AMH) paramezonefrik kanalların gerilemesini sağlamaktadır (10).

Eğer embriyo genetik olarak erkekse, primordiyal germ hücrelerinin cinsiyet kromozomları XY'dir. Testis belirleyici faktörü (TDF) kodlayan Y kromozomu üzerindeki SRY geninin etkisiyle, primitif cinsiyet kordonları testis veya medüller kordonları oluşturmak üzere, çoğalmaya devam edip medullanın derinliklerine doğru ilerlerler. Bu kordonlar bezin hilusuna doğru, daha sonra rete testisi oluşturacak ince hücre sıralarından ibaret bir ağ şeklinde dağılırlar. Gelişimin daha ileri evrelerinde testis kordonlarının yüzey epiteliyle olan ilişkileri tunika albuginea adlı yoğun fibröz bağ dokusunun araya girmesiyle sona erer (10).

Dördüncü ayda, testis kordonları atnalı şeklini alır ve bu atnalının uçları rete testis ile devam eder. Bu durumda testis kordonları artık primitif germ hücreleri ve bezin yüzey epiteliinden köken almış Sertoli destek hücrelerinden meydana gelmiştir.

Gonadal sırtın orijinal mezenşiminden köken alan interstisiyel Leydig hücreleri testis kordonlarının arasında bulunur ve bu kordonların farklanmaya başlamasından hemen sonra gelişmeye başlarlar. Gestasyonun 8. haftasında, Leydig hücreleri testesteron üretmeye başlarlar. Testisler artık genital kanal ve dış genital organları etkileyecek hale gelmiştir (10).

Puberteye kadar solid halde kalan testis kordonları, pubertede lümenleri açılarak seminifer tübüller haline gelirler. Seminifer tübüller kanalize olur olmaz rete testis tübüleriyle birleşir ve duktuli efferenteslere girerler. Bu eferent duktuslar mezonefrik sistemin geride kalmış boşaltım tübülleridir. Duktus deferens olarak bilinen bu kanallar, rete testis ile mezonefrik veya Wolffian kanalları birbirine bağlarlar (10).

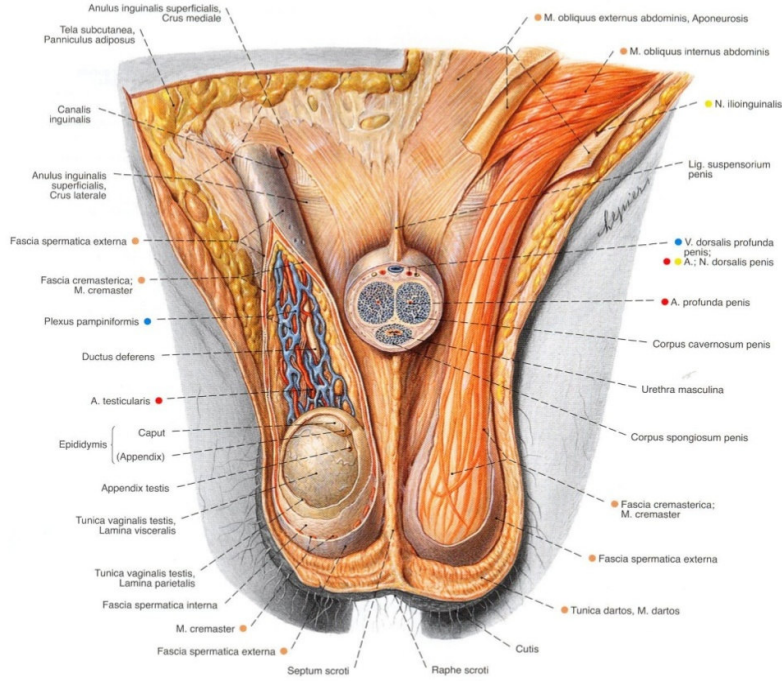
Testislerin inguinal kanallardan skrotuma inişi, genellikle 26. haftada başlar ve 2-3 gün devam eder. Testisler, periton ve processus vaginalis dışından geçerler. Testisler

skrotuma girdikten sonra, inguinal kanal, spermatik kord etrafında kasılır. Terimde doğmuş yeni doğanların %97'den fazlasında, her iki testis de skrotum içerisinde bulunur (10).

Testislerin skrotuma iniş şekli, duktus deferensin niçin üreteri anteriordan çaprazladığını ve testiküler kan damarlarının seyrini açıklamaktadır. Testiküler damarlar, testisler posterior abdominal duvar seviyesinde iken oluşurlar. Organlar, skrotuma inişi sırasında, duktus deferensi ve damarları da beraberinde taşırlar. Testis ve duktus deferens aşağı indiklerinde, karın duvarının fasial uzantıları ile sarılırlar. Skrotum içerisinde testis, prosessus vajinalisin distal ucu içerisine doğru uzanır. Perinatal dönem sırasında, prosessus vajinalisin bağlayıcı sapı, genellikle oblitere olur ve testisle ilişkili, izole bir peritoneal kese olan tunika vajinalis olarak kalır (10).

2.2. TESTİS ANATOMİSİ

Testisler erkek üreme hücrelerini ve hormonlarını üreten skrotum içerisinde asılı olarak bulunan sağlı sollu bir çift organdır. Yaklaşık 4-5cm uzunluğunda, 2,5cm genişliğinde, 3 cm kalınlığında ve 10-14 gram ağırlığındadırlar. Testisler oval biçimde olup yanlardan basıktır, skrotum içinde hareket ederler ve sol testis sağ testisten 1cm daha aşağıdadır. Dış (facies lateralis) ve iç (facies medialis) iki yüzü, ön (margo anterior) ve arka (margo posterior) iki kenarı, alt (extremitas inferior) ve üst (extremitas superior) iki ucu vardır. Arka kenara epididimis tutunur. Testisler dıştan sağlam ve kalın bir fibröz kılıf (tunika albuginea) ile sarılıdır. Tunika albuginea testisin arka kenarında bez içerisine sokulur ve tam olmayan bir bölme yapar. Bu bölmeye mediastinum testis denir. Mediastinum testiste, testise giren ve çıkan damarlar ile testis kanalları bulunur. Tunika albugineanın iç yüzünden ayrılan bağ dokusu uzantıları (septula testis) periferden mediastinum testise doğru uzanır. Septula testisler, testisi 200-300 lobüle (lobülü testis) ayırır. Lobüller piramit şeklinde olup tabanları testis yüzeyine ve tepeleri mediastinum testise doğrudur. Lobuli testislerin parankimini üreme hücrelerini yapan tubuli seminiferi kontorti denilen kanalcıklar oluşturur. Bir testiste 200-300 lobulus ve her bir lobulusta 1-4 arasında değişen sayıda tubulus seminiferi kontorti bulunur. Bu kanalların her birinin uzunluğu 70-80cm, genişliği ise 0.12 ile 0.3 mm'dir. Toplam sayıları 400-900 arasında değişir.



Şekil.2.2: Testisin anatomisi (Sobotta İnsan Anatomisi Atlası'ndan alınmıştır).

Tubulus seminiferi kontortiler mediastinum testise doğru yaklaştıkça düzleşir ve birbirleriyle birleşerek sayıları 20-30 arasında değişen tubulus seminiferi rektleri oluşturur. Bu tüplerin çapları 0.5mm kadardır. Tubulus seminiferi rektler mediastinum testisin fibröz dokusuna sokularak yukarı ve arkaya geçerler. Bu kanallar birbirleriyle birleşerek bir ağ meydana getirirler. Bu ağa rete testis denir. Rete testisten çıkarak epididimise uzanan ve sayıları 12-15 arasında değişen kanallara duktuli efferentes testis denir. Duktuli efferentes testisler kaput epididimiste duktus epididimis denilen kanallara açılırlar.

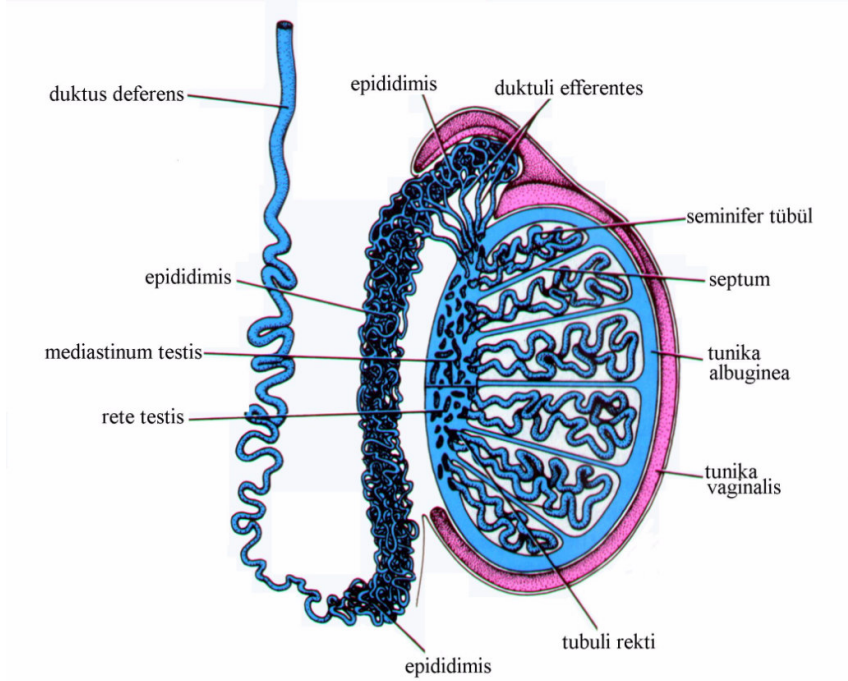
Epididimis spermiumların depo edildiği ve olgunlaştığı bir oluşumdur. Testislerin arka kenarında bulunan epididimis yaklaşık 6 metrelik duktus epididimisin bir araya toplanmasıyla oluşan bir yapıdır. Epididimisin genişlemiş üst kısmına kaput epididimis, orta parçasına korpus epididimis, alt parçasına kauda epididimis denir. Testisten çıkan duktuli efferentes testisler direkt olarak kaput epididimise girerler ve burada duktus epididimise açılırlar. Bu sayede kaput epididimis testise bağlanmış olur. Kauda epididimise yaklaştıkça duktus epididimis çapı artar, kıvrımları azalır. Duktus epididimis kuyruk ucunda duktus deferens ile devam eder (12).

Duktus deferens kauda epididimisin devamı şeklinde başlar ve duktus ejakulatoriusa kadar uzanır. Yaklaşık 40-50cm uzunluğunda kalın duvarlı bir borudur. Epididimiste depo edilen spermiumların duktus ejakulatoriusa kadar taşınmasını sağlar. Duktus epididimis kauda epididimisin ucundan itibaren duktus deferens adını alır ve geçtiği yerlere göre 4 parçaya ayrılır. Duktus deferensin kauda epididimisten itibaren testisin arka kenarı boyunca yükselen kısmına pars epididimika denir. Bu kısım testisin üst ucuna geldiğinde funikulus spermatikusun içerisine katılır ve pars funikulus adını alır. Kanalis inguinalis içerisinde ilerleyen parçasına pars inguinalis denir. İnguinal kanaldan pelvis içerisine girince funikulus spermatikusu oluşturan diğer yapılardan ayrılır. Dışa ve aşağıya doğru uzanan bu kısma pars pelvina denir. Pars pelvina pelvis boşluğunun yan duvarında ilerleyerek mesanenin arkasına ulaşır. Burada mesanenin tabanı ile rektum arasında yer alır. Duktus deferensin son bölümü genişler ve ampulla duktus deferentis adını alır. Ampullanın alt ucunda lümen tekrar daralır ve prostatın tabanı yakınında vezikula seminalisin kanalı ile dar bir açığı yaparak birleşir ve duktus ejakulatoryusu oluşturur(12).

Testislerin inişi sırasında, birlikte sürükledikleri damarlar, sinirler ve duktus deferens anulus inguinalis profundusta bir araya gelerek funikulus spermatikusu oluştururlar. Klinikte kısaca kordon denir. Funikulus spermatikus testisleri skrotum içerisinde asılı tutar. Anulus inguinalis profundustan testis arka kenarına kadar uzanır. Sol kordon sağdakinden biraz uzundur. Bu yüzden sol testis biraz daha aşağıdadır. Vezikula seminalisin kanalı ile duktus deferensin ampulla parçasını izleyen son kısım birleştikten sonra prostat içerisine girer ve duktus ejakulatorius adını alır. Uzunluğu 2cm kadardır. Bu kanal prostat içerisine üretraya açılır. Testis aorta abdominalisin bir dalı olan arteria testikularis tarafından beslenir. Testisin venleri önce funikulus spermatikusu saran, plexus pampiniformisi meydana getirirler. Daha sonrada birbirleriyle birleşerek vena testikularisi oluştururlar. Sağ vena testikularis vena kava inferiora, sol vena testikularis vena renalis sinistraya açılır (12).

2.3. TESTİS HISTOLOJİSİ

Testisler embriyonik gelişimi, seksüel olgunlaşmayı ve üreme fonksiyonlarını etkileyen bir ekzokrin ve endokrin fonksiyonu olan bir çift organdır (13).



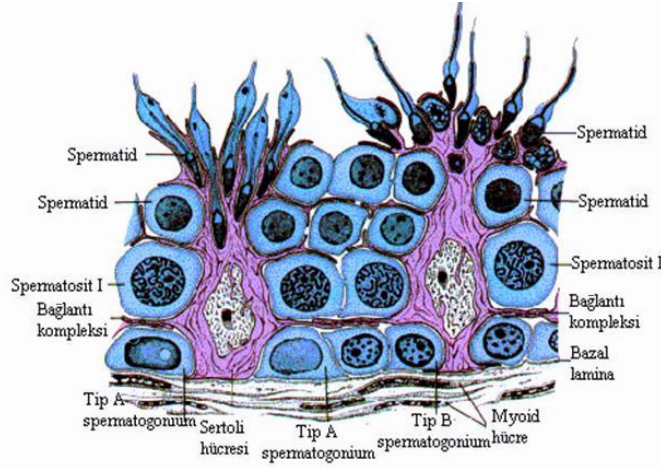
Şekil 2.3: Testis ve üreme yollarını gösteren şematik çizim (Ross, Romrell, Histoloji. A Text and Atlas, 5th ed.'dan modifiye edilmiştir.)

Embriyoda erkek fetüsün normal gelişimi için testislerde üretilen androjenler gereklidir. Pubertede testislerden salgılanan testosteron sperm üretiminin başlamasını ve sekonder seks karakterlerinin gelişimini sağlar. Erişkinlerde de sperm üretiminin devam etmesi, sekonder seks karakterlerinin korunması ve yardımcı bezlerin fonksiyonları testise bağlıdır. Skrotum içinde yer alan testisler, dıştan üç tabakalı kalın bir kapsül ile kuşatılmıştır. Kapsülün dış tabakası tunika vajinalis, orta tabakası tunika albuginea ve iç tabakası tunika vasküloza olarak isimlendirilir. Tunika vajinalis testislerin karın boşluğundan skrotuma inerken birlikte sürükledikleri abdominal periton tabakasıdır. Testisin anterolateral yüzeyinde bulunan tunika vajinalis mezotel ile döşelidir. Kapsülün en kalın ve belirgin tabakası tunika albuginea yoğun bir fibroelastik bağ dokusu tabakasıdır. Tunika albuginea, testisin arka yüzünde kalınlaşarak mediastinum testisi oluşturur. Testise giren ve çıkan kan damarları, lenf damarları ve kanallar bu tabaka

içinde seyrederek. En içte yer alan tunika vaskuloza ise damardan zengin gevşek bağ dokusu özelliğindedir. Kapsülden testis içine uzanan ince bağ dokusu uzantılar testisi insanda sayıları 250'ye ulaşan lobüllere ayırır. Her testis lobülü kan damarlarını, sınırları ve interstisyel hücreleri içeren gevşek bağ dokusu ile sarılı seminifer tübüllerden oluşur. Her lobül 1-4 adet seminifer tübül içerir. Seminifer tübüller spermin üretildiği, kıvrımlı seyreden tübüllerdir. Her testiste 250-1000 adet tübül bulunur. Lobüllerin apeksinde düz seyreden tübüller tubuli rekti (düz tübül) olarak isimlendirilir. Düz tübüller mediastinumda bulunan anastomozlaşan kanallar olan rete testis ile devamlılık gösterir. Rete testis, duktuli efferentes ile epididimisin baş kısmına bağlanmıştır (13).

2.3.1. Seminifer Tübüller

Seminifer tübüller 30-80 cm uzunluğunda, 150-250 µm kalınlığında kıvrımlı seyreden kanallardır. Tübülleri döşeyen seminifer epitel veya germinal epitel, spermatojenik hücreler ve Sertoli hücreleri olmak üzere iki farklı hücre grubu içeren çok katlı bir epitelidir. Epitel altında yer alan tunika propriya, fibroblast içermeyen tipik bir çok tabakalı bağ dokusudur. Bu tabaka insanda seminifer epiteli kuşatan ince bazal membran altında 3-5 sıra miyoid hücre ve kollajen lif tabakası içerir. Bu dokuya peritübüler doku da denir. Kemiricilerde bu tabaka tek sıra yassı miyoid hücre tabakası şeklindedir. Miyoid hücreler elektron mikroskopik düzeyde düz kas hücrelerine benzer şekilde bazal lamina ile sarılı aktin filamentlerinden zengin hücreler olarak izlenirler. Bu hücrelerin kontraksiyonu tübül lümenindeki olgun spermilerin kanallara iletilmesini sağlar. Bağ dokusunun kollajen lifleri de bu hücreleri tarafından sentezlenerek salgılanır. Seminifer epitelde yer alan hücre grubundan biri germ hücreleri olan spermatojenik hücrelerdir. Diğer hücreler ise germ hücrelerine destek olan ve onları besleyen Sertoli hücreleridir. Sertoli hücreleri bazal membrandan tübül lümenine kadar uzanan prizmatik hücrelerdir. Spermatojenik hücreleri ise birbiri üzerine sıralanmış farklı gelişim aşamasında olan hücrelerdir. Bunlardan bazal membrana en yakın olanı spermatogonyumlardır. Lümene en yakın bulunan, daha olgun hücreler ise spermatidlerdir. Lümente spermiyumlar izlenir (13).



Şekil 2.4: Bir seminifer tübülde Sertoli hücrelerinin yerleşimi, birbirleri ile bağlantıları ve gelişimin farklı dönemlerindeki spermatojenik hücreleri gösteren çizim (Ross, Romrell, Histology A Text and Atlas'tan).

2.3.1.1 Sertoli Hücreleri

Sertoli hücreleri gelişmekte olan spermleri destekleyen, koruyan ve besleyen önemli hücrelerdir. Spermatojenik hücrelerden farklı olarak bu hücrelerin bölünme yetenekleri yoktur. Bazal membrandan lümeneye uzanan bu hücrelerin, belirgin bir nukleolus içeren yuvarlak veya üçgen şekilli ökromatik nukleusları bazal sitoplazmada izlenir. Organelden zengin hücreler olan bu hücrelerde iyi gelişmiş granüler ve agranüler endoplazma retikulumu, belirgin bir Golgi kompleksi, bol mitokondriyon, lizozom, lipid damlaları ve glikojen granülleri bulunur. İnsanlarda bu hücrelerin bazal sitoplazmalarında Chrachot-Böttcher cisimleri olarak isimlendirilen özel inklüzyonlar izlenir. Işık mikroskopik düzeyde de görülebilen bu fuziform şekilli cisimlerin elektron mikroskopik olarak yoğun, paralel seyirli filamentler olduğu görülür. Bu cisimlerin kimyasal yapıları ve fonksiyonel önemleri bilinmemektedir. Sertoli hücrelerinin soluk boyanan sitoplazmalarının apikal bölümlerinde gelişmekte olan spermatozoonların başları bulunur. Işık mikroskopik olarak Sertoli hücrelerinin sınırlarının seçilmesi zordur. Komşu Sertoli hücreleri birbirlerine 50'den fazla paralel kaynaşma bölgeleri içeren zonula okludens türü bağlantı kompleksleri ile bağlanmışlardır. Bağlantı bölgesinin altında plazma membranına paralel seyreden agranüler endoplazma retikulumunun yassılaştırmış keseleri uzanır. Bunun dışında Sertoli hücreleri arasında gap

junction tipi bağlantı kompleksleri, Sertoli hücreleri ile erken dönem spermatojenik hücreleri arasında dezmozom benzeri bağlantı kompleksleri ve Sertoli hücreleri ile bazal lamina arasında hemidezmozom benzeri bağlantı kompleksleri bulunur. Sertoli hücrelerinin lateral uzantıları ile oluşturulan bölmelerde spermatojenik hücreler yerleşiktir. Sertoli hücrelerinin birbiri ile bağlanması ile oluşan epitelyal bölmelerin bazal bölümünde spermatogonyumlar ve erken dönem primer spermatositler, luminal bölümünde ise daha olgun spermatositler ve spermatidler bulunur. Spermatojenik hücreler bölünerek olgunlaşırken lümeneye ulaşmak için Sertoli hücreleri arasındaki bağlantı komplekslerinden oluşan bariyerleri aşmak zorundadır. Sertoli hücreleri arasındaki bağlantı kompleksleri spermatojenik hücreleri barındıran epitelyal alanlar oluşturmalarının yanı sıra kan-testis bariyeri olarak isimlendirilen önemli bir bariyeri de oluştururlar. Seminifer tübüllerin iyon, aminoasit, karbonhidrat ve protein içeriği kan ve lenfin içeriğinden oldukça farklıdır. Bu fark kan-testis bariyeri ile sağlanır. Kan-testis bariyeri erkek germ hücrelerinin kan yolu ile gelen zararlı maddelere karşı da korunmasını sağlar. Bu bariyer sayesinde, genetik olarak farklı olduğundan dolayı immun sistem tarafından bir antijen olarak kabul edilecek olan haploid germ hücreleri; sekonder spermatosit, spermatid ve spermiyumlar kişinin immun sisteminden izole edilmiş olur. Sertoli hücrelerinin sentezlediği androjen bağlayıcı protein yüksek oranda testosteron bağlar. Testosteron spermatojenik hücrelerin farklılaşma olgunlaşmalarını sağlar. Bu hücrelerde ayrıca FSH salınımını baskılayan inhibin, plazminojen aktivatör ve transferin sentezlenir. Sadece Sertoli hücrelerinde bulunduğu düşünülen FSH reseptörleri, androjen bağlayan protein, inhibin ve plazminojen aktivatör sekresyonu için gereklidir (13).

Sertoli hücre fonksiyonları

- 1- Gelişen sperm hücrelerini desteklemek, korumak ve beslemek,
- 2- Spermiyogenez sonunda oluşan sitoplazma artıklarını fagosite etmek,
- 3- Spermiyasyonu yani seminifer tübül lümenine olgun sperm salınımını sağlamak,
- 4- Seminifer tübül lümenine proteinler ve iyonlardan zengin bir sıvı salgılamak,
- 5-Seminifer tübül lümeninde spermatogenez için gerekli olan testosteron konsantrasyonunu arttıran androjen bağlayıcı proteini (ABP) üretmek ve salgılamak.
- 6-Hipofiz bezinden folikül uyarıcı hormon (FSH) salınmasını önleyen inhibin hormonunu salgılamak,

7-Anti-Müllerian hormonu üretmek ve salgılamak. Bu hormon üreme organlarının gelişimi sırasında Müller kanallarının gerilemesini sağlar (14, 15).

2.3.1.2. Spermatojenik Hücreler

Seminifer tübüllerde, lümen ile bazal lamina arasında yerleşmiş 4-8 hücre katı oluşturan ve gelişmekte olan hücre serileridir. Bunlar çoğalıp farklılaşan ve sonuçta olgun germ hücreleri olan spermatozoonların oluşmasını sağlayan farklı dönemlerdeki hücreleri temsil ederler. Bir kök hücreden farklılaşp spermatozoon oluşuncaya kadar geçen döneme spermatogenez denir. Spermatogenez spermatositogenez, mayoz evresi ve spermiyogenez evrelerinden oluşur (9).

2.3.1.3. Spermatositogenez ve Mayoz Evresi

Yeni bir canlının oluşması haploid sayıda kromozoma sahip erkek ve dişi germ hücrelerinin birleşerek diploid sayıda kromozoma sahip zigot oluşumu ile başlar. Haploid germ hücrelerinin oluşması sadece gametlerde gametogenez olarak bilinen mayoz bölünme yolu ile gerçekleşen bir olaydır. Puberteden sonra olgun erkek germ hücrelerinin oluşması spermatogenez olarak bilinir. Spermatogenez, spermatogonyumun bölünüp farklılaşarak sperm oluşturmasıdır. Spermatositogenez spermatogonyumların mitozla bölünerek primer spermatositleri oluşturduğu dönemdir. Spermatositlerin ardı ardına iki bölünme geçirerek kromozom sayılarını ve DNA miktarlarını yarıya düşürerek spermatidleri oluşturduğu evre mayoz adını alır. Primer spermatosit birinci mayoz bölünmesi ile iki adet sekonder spermatosite bölünür. Bu bölünme ile primer spermatositin diploid kromozom sayısı haploide inmiş olur. Sekonder spermatositlerin ikinci mayoz bölünmesi sonucunda ise spermatidler oluşur. Bu hücreler haploid kromozom ve DNA içeriğine sahiptirler. Spermatidlerin farklılaşarak hareketli spermatozoonlara dönüşmesine spermiyogenez denir. Bu olay testislerde gerçekleşir. İnsanlarda spermatogenez ve spermiyogenez yaklaşık 9 haftalık bir sürede tamamlanır (13).

Seminifer tübüllerde bazal membranın hemen üzerinde yer alan spermatogonyumlar kök hücrelerdir. Nükleus özelliklerine göre üç tip spermatogonyum tanımlanmıştır. Tip A koyu spermatogonyumlar ince granüler kromatine sahip yoğun bazofilik hücrelerdir. Bu hücrelerin diğer spermatojenik hücreleri oluşturan kök hücreler olduğu

düşünülmektedir. Çeşitli aralıklarla bölünerek ya yine bir Tip A koyu spermatogonyum ya da Tip A açık spermatogonyum oluştururlar. Tip A koyu spermatogonyum kök hücre olarak kalırken, Tip A açık spermatogonyum farklılaşıp olgunlaşarak spermiyum haline gelir. Tip A açık spermatogonyumlar ince granüler, açık boyanan nükleusları ile koyu spermatogonyumlardan ayrılırlar. Bu hücreler de pek çok kez mitoz geçirip sayılarını artırır. Pek çok bölünmeden sonra Tip A spermatogonyumlar, Tip B spermatogonyumlara farklılaşır. Tip B spermatogonyumlar kromatini nüklear kılıf boyunca ve nükleolus çevresinde kaba kümeler yapan yuvarlak nükleuslu hücrelerdir. Bu hücreler primer spermatositleri oluşturmak üzere bölünmeye giderler. Tip A açık spermatogonyumlar ince sitoplazmik uzantılarıyla birbirine bağlı kalırlar. Bu durum takip eden mitoz ve mayoz bölünmelerde de geçerli olduğundan dolayı, spermatidlerin olgunlaşmalarının son dönemlerine kadar hücreler birbirlerine bağılıklarını sürdürürler. Tip B spermatogonyumların mitoz bölünmesi sonucunda oluşan primer spermatositler oluşmalarından hemen sonra DNA'larını replike ederek mayoz bölünmeye hazırlanırlar. Her bir primer spermatosit normalin iki katı kromozom sayısına ($4n$) ve iki katı DNA'ya ($2d$) sahiptir. Primer spermatositlerden birinci mayoz bölünme ile sekonder spermatositler oluşur. Primer spermatositlere oranlar çok daha küçük olan sekonder spermatositler çok geçmeden ikinci mayoz bölünmeye girerler. Bu hücreler DNA sentezlemeden ikinci mayoz bölünmenin profazına girerler ve sonunda spermatidleri oluştururlar. Spermatidler 23 kromozom ($1n$) ve normalin yarısı DNA'ya ($1d$) sahip hücrelerdir. Yuvarlak veya poligonel şekilli, yoğun nükleuslu olan spermatidler, spermiyogenez olarak bilinen bir değişim dönemine girerler (13).

2.3.1.4. Spermiyogenez

Spermatidler bölünme yeteneğine sahip olmamasından dolayı metamorfoza uğrayarak spermatozoonlara dönüşürler. Bu olaya spermiyogenez adı verilmektedir. Spermiyogenez sırasında Golgi kompleksinde küçük granüller birikir. Bunlar birleşerek akrozomal vezikül içerisinde tek bir akrozomal granülü oluşturur. Akrozomal vezikül, Golgi bölgesinden köken alan bir membranla çevrili olup bu membran çekirdek membranına yapışır ve çekirdek yüzeyinin yarısını örter. Golgi apparatus bundan sonra çekirdeğin diğer kutbuna göç eder. Bu göç ile birlikte akrozomal vezikülün sıvı içeriğinin resorpsiyonu görülür. Akrozomal vezikül ve akrozomal granül, akrozom

olarak spermatid çekirdeğinin üzerinde baş şapkasını oluşturur. Spermin oosite ulaşması için oositin etrafındaki zona pelusida ve korona radiyata hücrelerini akrozomun içerdiği; hyaluronidaz, akrozin, asit fosfataz ve nöraminidaz gibi hidrolitik enzimlerin yardımıyla geçebilmektedir. Çekirdeğin akrozom oluşmayan diğer kutbuna yaklaşan sentriyollerden biri nüklear membran ile birleşir ve spermin kuyruğunu oluşturur. Kuyruğun yapısında 9+2 yapı düzeninde mikrotübüller yer almaktadır. 9 çift mikrotübül çevrede, 2 tek mikrotübül ise ortada bulunmaktadır. Diğer sentriyol ise hücre yüzeyine göç eder ve longitudinal aksiyal filamanları halka (annulus) şeklinde sarar. Çekirdeğin yoğunlaşması, hafifçe düzleşmesi, incelişmesi ve hücre membranının üzerine doğru ilerlemesi ile sperm başı oluşur. Sitoplazma içerisinde değişikliklere uğramış mitokondriyonlar, mitokondriyal kılıfın oluşması için bazal sentriyol ve annulus arasındaki bölgeye geçer ve flagellumun etrafında heliks şeklinde düzenlenir. Artık sitoplazmanın büyük bir kısmı kalıntı halindedir ve rezidüel cisimcik olarak atılır. Rezidüel cisimcikler, Sertoli hücreleri tarafından fagosite edilmektedir.

Spermatidlerin differansiyasyonu sonucu oluşan spermatozoonlar seminifer tübülün lümenine geçer. Morfolojik olarak olgun fakat fonksiyonel olarak olgun olmayan bu evrede spermatozoonlar hareket yeteneğine sahip değildirler. Dolayısıyla oositi fertilize edebilmesi sınırlıdır. Spermatozoon olgunlaşmasının son basamağı kapasitasyondur (15-18).

Kapasitasyon, spermiyumun dişi genital sistemine girdikten sonra uğradığı bir takım morfolojik ve fonksiyonel değişikliklerdir. Bu değişiklikler sonucunda spermiyum oosit yüzeyindeki zona pellucida tabakasına tutunabilir (13).

2.3.2 İnterstisyel Alan

Testislerde seminifer tübüller arasındaki boşluklar bağ dokusu, sinirler, pencereci kapillerler ve lenf damarları ile doludur. Bağ dokusu değişik tipte hücreler içerir; bunlar arasında fibroblastlar, farklılaşmamış bağ dokusu hücreleri, mast hücreleri ve makrofajlar bulunur. Ergenlikte işlevsel olarak belirgin hale gelen yuvarlak yada çokgen şekilli, çekirdeği merkezde ve küçük lipid damlacıklarından zengin eozinofilik sitoplazmalı Leydig hücreleri ise steroid sentezi yapan hücre özelliklerini gösterirler. Bu hücreler, mitokondriyumlarında ve düz endoplazmik retikulumlarında bulunan enzimler tarafından erkeklik hormonu testesteronu üretirler (15).

2.4. KADMİYUM

Metaller, insanlar için bilinen en eski toksinlerdir. Metalleri diğer toksik maddelerden ayıran en önemli özellikleri, insanlar tarafından ne oluşturulabilir ne de yok edilebilir olmalarıdır. Metaller, çevresel taşınım sonucu besinler ve içme suları ile insanlar tarafından veya hava, su, toprak ve besinlerle organizmaya girebilirler. Periyodik tablodaki 105 elementin yaklaşık 80'ini metaller oluşturur ve bunların 30 kadarının insanlarda toksisite oluşturduğu bilinmektedir. Endüstrileşmenin gelişmesi ve ilerlemesine bağlı olarak, 19. yüzyılda çevre kirlenmesiyle ilgili sorunlar ortaya çıkmaya başlamıştır. Ağır metaller endüstrileşmeye bağlı olarak çevreye yayılan ve olumsuz etkileri gün geçtikçe artan elementlerdir (19).

Özellikle mesleki ve çevresel maruziyet sonucu kadmiyum (Cd), alüminyum, kurşun, civa ve manganez biyolojik sistemlerle etkileşerek ciddi sağlık sorunlarına yol açar (20, 21).

Kadmiyum doğada serbest olarak çok az bulunur. Belli başlı kaynağı çinko ve kurşun cevherleridir. Çinkonun rafinasyonu sırasında yan ürün olarak elde edilir. Çinko cevheri % 0.2-4.5 kadmiyum içerir. Kadmiyum gümüş beyazı renğinde bir metal olup paslanmaya karşı dayanıklıdır. Bıçak ile kesilebilecek kadar yumuşaktır (22).

2.4.1. Kadmiyumun Çevreye Etkisi

Üretimi 1900'lü yıllardan günümüze 20.000 kat artan kadmiyumun %77'si nikel-kadmiyum pil, %11'i pigment, %8'i kaplama ve %4'ü de diğer endüstriyel ürünlerin üretimi için kullanılmaktadır (23).

Kadmiyum ve bileşikleri; pigment ve boya üretimi, matbaacılık, tekstil, fotoğrafçılık, florasan lamba üretimi, mücevhercilik, oymacılık, otomobil sanayisinde ve başta domuzlar olmak üzere evcil hayvanların askariazislerine karşı antihelmintik olarak kullanılırken, pestisitler, yarı iletkenler ve diş amalgamlarında da bulunmaktadır (24, 25). Kadmiyumun nikkelle alaşımı yapılarak alkali pillerin üretimi, plastik madde üretimi, lehim üretimi, kadmiyum kaplamalı mutfak malzemeleri ve galvanoplastide kullanılmaktadır (26). Sentetik polimer yapımı, cam sanayi, çinko yapımı, yan ürün olarak kurşun ve çinko rafinerilerinde, fosfatlı gübrelerde, petrokimya ve çelik endüstrisinde, motorlu araç ve uçak endüstrilerinde ve seramik yapımında kullanılır (27).

Kadmiyum motorlu taşıtların akümülatör ve karbüratörlerinde alaşım olarak bulunur ve yanma ürünü şeklinde dışarıya atılır. Kadmiyum, motor yağının yanması ve lastiklerin aşınması sonucu atmosfere yayılmaktadır (27).

Önemli bir kadmiyum kaynağı da sigaradır. Bir sigara 1-2 µg kadmiyum içerir ve bunun %10'u solunumla alınır. Günde bir paket sigara içmek günlük kadmiyum alınımını iki katına çıkarmaktadır (28).

Kadmiyum tütün yapraklarında birikmektedir. Yetişkinler için ulusal geometrik ortalama kan kadmiyum düzeyi 0.47 µg / L'dir. Sigara içenler için ortalama kan kadmiyum düzeyleri 1.58 µg/L gibi yüksek bildirilmiştir (22). İnsanlarda haftalık olarak alınmasına izin verilen kadmiyum miktarı 400-500 µg (veya 50- 150 µg/gün) olarak sınırlandırılmıştır (24).

İlk olarak 1817'de bulunan bu element, sık olarak kullanılmadığı için elli yıl sonra birinci dünya savaşında kalay metalinin yokluğu nedeniyle kadmiyum kalayın yerini almış ve besin kaplarının kaplanmasında kullanılmıştır (29-32). Ancak asit özellikteki besinlere geçen kadmiyumun insan ve hayvanlarda zehirlenmeye yol açması nedeniyle kısa zamanda kullanımı bırakılmıştır. İkinci dünya savaşında yine kalay yokluğu kadmiyumun konserve kaplarda kalay yerine kullanılmasına yol açmıştır. Yeniden ortaya çıkan zehirlenme olayları ile kullanımı yasaklanmıştır. Buna rağmen kadmiyum hala endüstride birçok alanda kullanılmaktadır (33, 34). 1946'da Japonya'da "İtai-itai" hastalığı adı verilen epidemik olayın Japonya'da kurşun ve kadmiyum filizlerinin çıkarıldığı maden ocaklarının atıklarının Jinhzu nehrini kirletmesi sonucu ortaya çıktığı belirlenmiştir. Bu hastalık, nehrin civarında yaşayan halkın sulama ve içme suyu olarak nehirden yararlanmasının sonucunda, suyu kirleten kadmiyum ve kurşunun besin zinciri ile (pirinç, bakla gibi), burada yaşayan insanlara ulaşmasıyla ortaya çıkmıştır. Yıllar sonra "İtai-itai", "ouch-ouch" veya "çok ağrılı" anlamına gelen şiddetli romatizmal ağrılarla dikkati çeken olay kendini göstermiştir (22, 29). Kadmiyum zehirlenmesinin neden olduğu anlaşılan bu olay birçok epidemiyolojik çalışmalara yol açmıştır.

Kadmiyumun biyolojik yarılanma ömrünün uzun olması nedeniyle biyoakümülyasyonu ile toprakta kontaminasyon meydana gelmektedir. Kadmiyum ve kadmiyum bileşikleri, 1993 yılında IARC (Uluslararası Kanseri Araştırma Ajansı) tarafından insan için karsinogenik olarak (Grup I) sınıflandırılmıştır.

2.4.2. Kadmiyum Toksisitesi

Kadmiyum insan vücudunda hemen hemen tüm sistemler üzerine toksik etkiler gösterebilmektedir. Bu metalin organizmadan atılımı için herhangi bir vücut mekanizması olmadığından dokularda birikim gösterir. Organizmaya alınan kadmiyum öncelikle böbreklerde ve karaciğerde olmak üzere, kemikler ve akciğerde birikir. Kadmiyumla ilgili yapılan çalışmalarda, hem akut ve hem de kronik maruziyetiyle birçok organda hasara neden olduğu gösterilmiştir. Akut kadmiyum zehirlenmesi, başta karaciğer ve testislerde hasara neden olurken, kronik maruziyet renal hasar, anemi, immünotoksisite ve osteotoksisiteyle sonuçlanır. Akut kadmiyum zehirlenmesinde, kadmiyumun dolaylı olarak reaktif oksijen türleri ve radikallerin üretimine neden olduğu düşünülmektedir (35-39).

Kadmiyum organizmada direk olarak ya da immün sistem gibi homeostatik mekanizmaları etkileyerek toksik etki göstermektedir (25). Kadmiyum vücuda sindirim, solunum ve deri yoluyla alınır. Ağızdan alınan kadmiyum metali ve bileşikleri, hayvan türlerine göre % 0,5-12 arasında değişen oranlarında sindirim kanalından emilebilir. Protein, demir ve kalsiyum noksanlığında bağırsaklardan emilimi artar. Kadmiyum buharlarının tamamına yakını akciğerlerden emilir. Bu durum sigara dumanında kadmiyum bulunması bakımından önemlidir. Kadmiyum klorür gibi suda çözünebilen kadmiyum tuzları, sağlam deriden % 4'e yakın oranda emilmektedir. Deneysel ve çevresel olarak bu metale maruz kalınması halinde testis atrofisi, infertilite, böbrek fonksiyon kaybı, karaciğer hasarı, solunum ve sindirim sistemi bozuklukları ve anemi gibi ciddi rahatsızlıklar oluşmaktadır. Kadmiyumun çeşitli hücrelerin ince yapısı üzerindeki toksik etkileri ise çekirdek membran hasarı, kromatin yoğunlaşması, mitokondri kristallerinde hasar ve sonunda hücre ölümüdür (22, 35). Kadmiyumun vücuttaki dağılımı, alınış yolu, dozu ve süresine bağlı olarak değişmektedir. Kadmiyum toksikasyonlarında semptomatik tedavi yöntemleri uygulanmaktadır (40).

Kadmiyum, hücrelerin antioksidan sistemlerini değiştirerek ve membran lipidlerinin peroksidasyonunu artırarak farklı dokularda oksidatif hasarı indükleyebilir (41, 42).

Kadmiyum, hücre içine membranda bulunan taşıyıcı proteinlerle alınır. Taşıyıcı proteinlere bağlanırken, kalsiyum ve çinko ile yarışır. Kadmiyum hücre içine, kalsiyum, çinko, demir ve bakır gibi esansiyel elementlerle aynı mekanizmayla alındığından, bu

elementlerden yoksun ve düşük miktarda protein içeren diyetle beslenmeyle emilimi artar. Ayrıca demir eksikliği olan kadınlarda da kadmiyumun emilimi daha fazladır (43, 44).

Kadmiyumun vücuttaki çeşitli organ ve dokulardaki birikiminde, kadmiyumu bağlayan küçük molekül ağırlıklı bir protein olan metallothionein (MT), ağır metallerin detoksifikasyonunda, hücre içi bağlanmasında ve düzenlenmesinde önemli bir görev üstlenir. Çeşitli zararlı ajanların ortamdaki uzaklaştırılmasını sağlar. Genetik bilgi sentezi, hücre onarım, büyüme ve farklılaşmada düzenleyici, metabolizma için gerekli olan çinko ve bakır gibi metallerin fazla miktarlarının depolanması, hücre içi taşınması ve detoksifikasyonu gibi olaylarda yer alır (45).

Testiste, MT Sertoli hücrelerinde ve intersitisyel hücrelerde gözlenir, fakat spermatogonialarda tespit edilmez. MT genelde besleyici, absorbtif ve salgılayıcı yeteneği olan hücrelerde bulunmaktadır (46).

Plasenta, MT sentezleyerek anne kökenli kadmiyuma bariyer oluşturur. Bu nedenle, yeni doğanlarda kadmiyum miktarı düşüktür. Normal şartlarda ergin bireylerde kan kadmiyum düzeyi 1 µg/ml'dir. Sütteki kadmiyum düzeyi ise 1 µg'dan daha düşüktür. Dokularda MT'lere bağlı olarak bulunan kadmiyumun toksik olmadığı düşünülür (47).

Kadmiyum toksisitesinin sebebi olarak; Metalloenzimlerdeki Zn^{+2} , Cu^{+2} ve Ca^{+2} gibi metal iyonlarıyla yer değiştirme, proteinler, enzimler gibi tiyol (-SH) grubu içeren biyolojik yapılara güçlü afiniteyle bağlanma, kalmodulindeki Ca^{+2} 'la yer değiştirip, kalmoduline bağlı fonksiyonları aktive etme ya da düzenleme gösterilmektedir (40, 48).

Akut kadmiyum toksisitesine en duyarlı organlardan biri de testislerdir. Kadmiyum, testislerde reaktif oksijen türlerinin üretimini artırır, antioksidan enzim seviyelerini azaltarak oksidatif strese neden olmaktadır. Sıçanlarla yapılan bir çalışmada C vitamini ve E vitamini kombinasyonlarının antioksidan savunma sistemlerini destekleyerek kadmiyumun neden olduğu testis hasarını azalttıkları belirtilmiştir (49).

2.4.3. Kadmiyumun Organlar Üzerine Etkisi

Kadmiyumun vücuttan atılımının az olması ve birikim yapması nedeni ile sağlık üzerine olumsuz etkileri zaman içinde gözlenir. Yaşın ilerlemesiyle vücuttaki kadmiyum birikimi doğru orantılıdır. Kadmiyum yaşlı ve sigara içenlerin kanında, seminal plazmasında ve folliküler sıvısında artış göstermektedir. Kadmiyum primer olarak

karaciğer ve böbrekler tarafından elimine edilmektedir. Uzun süreli maruziyetten en fazla etkilenecek organ böbreklerdir. Deneysel çalışmalarda kadmiyum tuzlarının üreme sisteminde spesifik vasküler hasara bağlı testiküler nekroza yol açtığı gösterilmiştir (50, 51).

Kadmiyum testis, prostat ve diğer organlarda tümör indüklenme kapasitesindedir. Karaciğer, kemik, over gibi pek çok dokuda kadmiyumun zararlı etkiler oluşturabildiği hayvan deneylerinde gösterilmiştir. Testis, parenteral uygulamadan sonra kadmiyuma son derece duyarlıdır. Akut uygulamasında doza bağlı olarak, hemorajik inflamasyon, atrofi, ödem, nekroz, seminifer tübüllerin disfonksiyonu yine seminifer tübüllerde kalıcı hasarlara sebep olmaktadır. Kadmiyum non-esansiyel toksik bir elementtir. Kofaktör olarak demire ihtiyaç duyan birçok enzim üzerine toksik etkilidir ve bu enzimlerden biri de sitokrom P450'dir. Leydig hücrelerindeki P450 Sertoli hücrelerine göre 10 kat fazladır ve bu nedenle de yüksek kadmiyum düzeylerine daha duyarlıdır. 17-hidroksilaz ve 17-20 liyaz fonksiyonu için sitokrom P450 gerektiğinden bunun hasarı testiküler steroidogenezi de etkileyebilir (52, 53).

Kadmiyum hücrenin proliferasyonunu, diferasyonunu, apoptozunu ve diğer hücrel aktivitesini etkilemektedir. Kadmiyumun gen transkripsiyonu ve translasyonu üzerine de etkileri mevcuttur. Bunun yanı sıra, oksidatif hasarda DNA tamir prosesinin savunma mekanizmalarını etkiliyor olması genotoksik etki mekanizmalarından diğer bir tanesidir (54). Kadmiyum gonadotropin, ovarial progesteron ve ovulasyon oranını düşürmekte (55), plasenta yapısını bozarak gebeliği de ters yönde etkilemektedir (56).

Kadmiyum, spermlerin motilitesinde ve spermatogenez indeksinde azalmaya neden olmaktadır (57), sebep olduğu testiküler nekroz ise kalıcı infertiliteye neden olabilir. Testiküler kadmiyum seviyeleri arttıkça, seminifer tübüllerdeki apoptozis oranı artmakta ve varikosel onarımı sonrası semen parametrelerindeki düzelme azalmaktadır (58). Kadmiyum spermatogenezis olayında etkili olan Sertoli hücreleri arasındaki bağlantı kompleksini bozmakta (59, 60), spermatogenik seriye ait hücrelerde bozukluk oluşturmaktadır (60). Yine çok düşük dozda kadmiyumun testislerde hemorajik nekroza yol açtığı ve kemirici prostatında karsinojenik etkiye sahip olduğu rapor edilmektedir (60, 61). Kadmiyumun dokularda meydana getirdiği hasarın, antioksidan savunma sisteminde meydana gelen bozuklukla ilgili olduğu düşünülmektedir. Çünkü kadmiyum uygulamasını takiben katalaz, glutatyon, glutatyon peroksidaz miktarlarında azalma

olurken (62), lipid peroksidasyonunda artış meydana gelmektedir (50). Kadmiyumun birçok hayvan türünde, özellikle testis üzerinde toksik etkileri uzun süredir bilinmektedir (63) ve kadmiyumun akut toksik etkilerine karşı kemirgenlerdeki en hassas organın testis olduğu bildirilmiştir (64).

Kadmiyum toksikasyonu oluşturulan ratlarda testis ve epididimis ağırlıklarının azaldığı (66, 67), soluk sarı renkli olduğu ve ilerleyen olgularda testislerin ve epididimislerin sert ve büzüşmüş yapı ve görünümde olduğu bildirilmiştir (65).

Bununla birlikte kadmiyum toksikasyonundan korunmak veya toksikasyonu önlemek için selenyum, vitamin E, vitamin C, likopen, taurin, melatonin, asetilsistein, progesteron, β -karoten, klorpromazin ve glutasyon kullanıldığı bildirilmiştir (4, 49, 64, 66-68).

2.5. ETİL PİRÜVAT

Pirüvat, 2-oxopropionat'ın ($\text{CH}_3\text{COCO}_2\text{H}$) genel kullarımdaki adıdır. Pirüvat, pirüvat kinaz enzimince katalizlenen glikolitik yolun son ürünüdür (69). Pirüvat, glikoz metabolizmasının önemli bir medyatörüdür ve alfa-keto karboksilat yapısı pirüvata antioksidan özelliği verir; peroksidaz ve peroksinitriti nötralize eder (5).

Etil pirüvat (EP), pirüvik asidin basit alifatik esteridir. Tam adı etil 2-oksopropionat 'dır. Formülü $\text{C}_5\text{H}_8\text{O}_3$ 'dür. Yoğunluğu 1.06, kaynama noktası 144 derecedir. Açık sarı renklidir (70). Pirüvat sulu çözeltilerde stabil değildir, aköz çözücülerde çözüldüğünde spontan olarak kondansasyona ve siklizasyon reaksiyonuna girer ve bir kısmı toksik etkili olabilen bir çok ürün oluşturur (69); bu nedenle deneysel çalışmalarda onun etil esterini olan etil pirüvat kullanılmaktadır. Pirüvat anyonlarına göre esterlerinin etkinliğinin daha yüksek olduğu gösterilmiştir (71).

İlk olarak 1904 yılında Holleman pirüvatın antioksidan özelliğini tarif etmiştir. Holleman çalışmasında pirüvatın reaktif oksijen türlerinden hücreyi arındırdığını bulmuştur. Bu gelişmenin ardından araştırmacılar, pirüvatı antioksidan terapötik olarak kullanmanın yollarını araştırmışlardır (72).

Etil pirüvat umut veren antioksidan ve anti-inflamatuvar bir ajandır. Kalsiyum ve potasyum içeren dengeli bir solüsyonda; Ringer's etil pirüvat solüsyonu (REPS) bozulmadan ve etkinliğini kaybetmeden uygulanabildiği bildirilmiştir (73).

Etil pirüvatın anti-inflamatuar etkisi kesin olarak belirlenmesine rağmen bu etkiden sorumlu olan biyokimyasal mekanizmalar henüz tam olarak bilinmemektedir. Bunun için bir dizi olasılık öne sürülmüştür. Bu potansiyel mekanizmalar birbirleriyle çelişkili olmadığı için etil pirüvatın anti-inflamatuar etkilerinin multifaktöriyel olduğu düşünülmektedir (73).

Etil pirüvat, etkili bir serbest radikal temizleyicisidir (74). Hidrojen peroksit (H_2O_2) varlığında etil pirüvat non-enzimatik dekarboksilasyonla α -ketokarboksilikasitin çok tipik bir reaksiyonu olan asetat, karbon dioksit ve su formuna dönüşür (75, 76). Etil pirüvatın aynı zamanda hidroksil (OH) radikallerini de temizlediği gösterilmiştir (77).

Deneysel çalışmalarda, etil pirüvat uygulanması ile iskemi-reperfüzyonla oluşturulan serbest radikallerin neden olduğu ince bağırsaktaki mukozal hasarı, myokardiya ve renal hasarı önlediği gösterilmiştir. Etil pirüvat güçlü bir serbest radikal temizleyicisi olduğundan bunların neden olduğu doku hasarını önleme potansiyeline sahiptir (78, 79).

Etil pirüvat serbest oksijen radikali (ROS) süpürücüsü olarak görev yapar ayrıca interlökin-1 (IL-1) , interlökin-6 (IL-6), siklooksijenaz-2 (COX-2), Tümör nekrotizan faktör- α (TNF- α) , makrofaj inhibe edici faktör (MIF) ve High Mobility Group Box 1 (HMGB1) üretimini engelleyerek etkisini gerçekleştirir. Antienflamatuar ajan olan etil pirüvat interlökin-10 (IL-10) üretimini artırır. Etil pirüvat birçok enflamatuar olayın merkezinde rol alan Nükleer Faktör kappa Beta (NF κ B) aktivasyonu ve indirgenebilen Nitrik Oksit Sentaz (iNOS) üretimini baskılar (80). Etil pirüvatın karaciğerde iskemi ve reperfüzyon hasarını, ayrıca nekroz ve apoptozisi azaltarak iyileştirdiği gösterilmiştir (81). Etil pirüvat uygulanan; ağır sepsis, akut solunum yetmezliği, yanık, akut pankreatit ve inme gibi kritik hastalıkların çeşitli prelinik modellerinde sağkalımı artırdığı ve organ fonksiyon bozukluklarını iyileştirdiği gösterilmiştir (70, 82).

Genelde etil pirüvatın immünomodüler etkileri üzerine yapılan çalışmalarda anti-inflamatuar etkileri üzerine odaklanılmış olsa da, yapılan son çalışmalar en azından deneysel kanser modellerinde, T hücre aracılıklı anti-neoplastik bağışıklığı artırdığını göstermiştir. Yapılan bir çalışmada etil pirüvat uygulanan singeneik farelerde B16-F10 melanoma hücreleri veya Bin1- MR KEC hücreleri ile mücadele ederek tümör büyümesini inhibe ettiğini göstermişlerdir (83). Etil pirüvatın bu etkisi bir NF- κ B duyarlı indüklenebilir enzim olan indolamin 2,3-dioksijenazın (İDO)

ekspresyonunun azalmasıyla ilişkili bulunmuştur. Diğer bir çalışmada etil pirüvatın doğuştan atimik T hücre-eksikliği olan farelerde ve İDO knock-out farelerde tümör büyümesini etkilemede başarısız olduğunu bulmuşlardır. Bu veriler etil pirüvatın İDO enziminin NF- κ B aracılı uyarılmasının inhibasyonu ile malign hücrelere karşı T hücre bağımlı immüniteyi geliştirebileceğini desteklemektedir.

NF- κ B, esas olarak Rel ailesinden proteinlerin homo veya heterodimerizasyonu sonucu oluşmuş transkripsiyon faktör ailesidir. NF- κ B kompleksi, hücrede immün ve inflamatuvar olaylarla ilgili hızlı cevap transkripsiyonunda rol oynar. κ (kappa) hafif zincir genini aktive eden bir transkripsiyon faktörü olarak tanımlanmıştır. Daha sonra NF- κ B'nin 200 kadar genin transkripsiyonunda rolü olduğu anlaşılmıştır. Etil pirüvatın NF- κ B kompleksindeki kritik önemi olan sülfhidril gruplarını bozarak etki ettiği düşünülmektedir. Bu etkiyi özellikle p65 altünitesine bağlanarak gerçekleştirdiği bildirilmektedir (8).

Etil pirüvat güçlü bir serbest radikal temizleyicisi olup bunların neden olduğu doku hasarını önleme potansiyeline sahiptir (78, 79). Etil pirüvatın karaciğer nekroz ve apoptozisini azaltarak iskemi ve reperfüzyon hasarını iyileştirdiği gösterilmiştir (81). Çalışmalar ortaya çıkarmıştır ki Ringerli etil pirüvat solüsyonu mezenterik iskemi ve reperfüzyon hasarı ile gelişen intestinal mukozadaki yapısal ve fonksiyonel hasarı azaltmaktadır. Ayrıca hemorojik şokla ratlarda oluşturulan mukozal yaralanmayı da azaltarak sağ kalımı artırmaktadır (82). Yang ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada etil pirüvatın ekstrahepatik kolestaza bağlı karaciğer hasarını azalttığını göstermişlerdir (85). Ayrıca pirüvat içeren solüsyonların galaktoz veya diyabetin indüklediği katarakt oluşumunda, inme ve hemorojik şokta serbest radikallerin aracılık ettiği doku hasarında da önleyici özeliği gösterilmiştir (86).

Sonuç olarak etil pirüvat tüm bu etkilerini;

1. Serbest oksijen radikallerini temizlemesi
2. IL-1 , IL-6 ve TNF-alfa'nın etkisini azaltması
3. COX-2 ve MİF üretimini azaltması
4. HMGB1'in etkisini azaltması
5. IL-10 üretimini artırması
6. NF κ B aktivasyonu ve İNOS üretimini baskılamasıyla gösterir (80).

Ancak tüm bu çalışmalara rağmen etil pirüvatın gerçekte bir ilaç değil ön ilaç olduğu ve katıldığı metabolik reaksiyonlarca hücre içinde aktiflendiği bildirilmiştir. Tüm çalışmalardan çıkan ortak sonuç ise; etil pirüvatın umut veren bir ajan olduğudur (73).

3. GEREÇ-YÖNTEM

Bu çalışmada Erciyes Üniversitesi Deneysel ve Klinik Araştırma Merkezinde (DEKAM) yetiştirilen 250-300 gr ağırlığında ergin erkek Wistar albino türü sıçanlar kullanıldı. Kafesler içinde tutulan sıçanlara günün normal düzeninde 21 °C ve 12 saatlik aydınlık/karanlık ortamında bakım odalarında izin verilen ölçüde standart besin ve su ile yetiştirildi. Denekler rastgele 4 gruba ayrıldı.

Grup I (n=8); kontrol grubu,

Grup II (n=8); 2,5 mg/kg kadmiyum (intraperitoneal),

Grup III (n=8); 2,5 mg/kg kadmiyum + 100 mg/kg etil pirüvat (intraperitoneal),

Grup IV (n=8); 100 mg/kg etil pirüvat (intraperitoneal) uygulanarak oluşturuldu.

3.1. Deneysel Prosedür

Etil pirüvat solüsyonu 100mg/kg olacak şekilde deneklere 24 saat arayla iki doz intraperitoneal olarak verildi. Kadmiyum, grup II ve grup III'deki deneklere 2,5 mg/kg olacak şekilde, 2. etil pirüvat uygulamasından 1 saat sonra intraperitoneal olarak uygulandı. Kadmiyum uygulanmasından 24 saat sonra tüm denekler ketamin + xylazin anestezisi altında dekapite edilerek testis dokuları çıkarıldı. Tüm prosedürler etik kurallara uygun bir şekilde gerçekleştirildi. Dekapite edilen sıçanlardan alınan testisler %4'lük formaldehit ile tespit edildi. Tespit solusyununda 48 saat bekleyen testisler bir gece akan musluk suyunda bırakıldıktan sonra artan alkol serilerinden geçirilerek sudan

kurtarıldı ve ksilol ile şeffaflandırdıktan sonra parafine gömülerek bloklandı. Yapılan bu işlemler Tablo 3.1’de ayrıntılı olarak verilmiştir.

Tablo 3.1 : Işık Mikroskobu Doku Hazırlama Tekniği

Sıra	Yapılan işlem	Süre	Sıra	Yapılan işlem	Süre
1	Musluk suyu	1 gece	8	Absolü Alkol	1 saat
2	%50 Alkol	1 saat	9	%50 Ksilol- Alkol	10 dakika
3	%70 Alkol	1 saat	10	%70 Ksilol-Alkol	10 dakika
4	%80 Alkol	1 saat	11	Ksilol	20 dakika
5	%96 Alkol	1 saat	12	Ksilol	20 dakika
6	Absolü Alkol	1 saat	13	Ksilol	20 dakika
7	Absolü Alkol	1 saat	14	Eriyik parafin	1 gece
			15	Bloklama	

Parafin bloklardan alınan 5-6 µm’lik kesitler polilizin kaplı lamlara yayıldı. Hazırlanan lamalar standart histolojik yöntemler kullanılarak ksilol ile parafini uzaklaştırıldı ve dereceli alkol serilerinden geçirilip sulandırıldı. Genel histolojik yapıyı görmek amacıyla kesitler hematoxilen-eozin (H+E) (Tablo 3.2) ve Masson’un üçlü (Tablo 3.3) boyası ile boyanarak önce artan alkol serilerinden daha sonra ksilolden geçirilerek incelendi.

Tablo 3.2 : Hematoxilen-Eozin Boyama Tekniği

Sıra	Yapılan İşlem	Süre	Sıra	Yapılan İşlem	Süre
1	Etüv (60 °C)	1 saat	13	Akarsu	5 dakika
2	Ksilol I	20 dakika	14	Eozin	3-5 dakika
3	Ksilol II	20 dakika	15	Akarsu	5 dakika
4	Ksilol III	20 dakika	16	%50 Alkol	10 dakika
5	Absolu Alkol I	20 dakika	17	%70 Alkol	10 dakika
6	Absolu Alkol II	20 dakika	18	%80 Alkol	10 dakika
7	%96 Alkol	20 dakika	19	%96 Alkol	10 dakika
8	%80 Alkol	20 dakika	20	Absolu Alkol I	10 dakika
9	%70 Alkol	20 dakika	21	Absolu Alkol II	10 dakika
10	%50 Alkol	20 dakika	22	Ksilol I	20 dakika
11	Akarsu	5 dakika	23	Ksilol II	20 dakika
12	Hematoxilen	5-8 dakika	24	Kapatma	

Tablo 3.3 : Masson'un Üçlü Boyama Tekniği

Sıra	Yapılan İşlem	Süre	Sıra	Yapılan İşlem	Süre
1	Etüv (60 °C)	1 saat	16	Distile Su	5 dakika
2	Ksilen I	20 dakika	17	Fosfomolibdik asit	5 dakika
3	Ksilen II	20 dakika	18	Anilin blue solüsyonu	2-5 dakika
4	Ksilen III	20 dakika	19	Distile Su	5 dakika
5	Absolu Alkol I	20 dakika	20	%1'lik asetik asit	2 dakika
6	Absolu Alkol II	20 dakika	21	Distile Su	5 dakika
7	%96 Alkol	20 dakika	22	%50 Alkol	10 dakika
8	%70 Alkol	20 dakika	23	%70 Alkol	10 dakika
9	%50 Alkol	20 dakika	24	%96 Alkol	10 dakika
10	Akarsu	5 dakika	25	Absolu Alkol I	10 dakika
11	Hematoksilen	5-8 dakika	26	Absolu Alkol II	10 dakika
12	Akarsu	5 dakika	27	Ksilen I	20 dakika
13	Asit alkol	3-5 dakika	28	Ksilen II	20 dakika
14	Akarsu	5 dakika	29	Kapatma	
15	Asit fuksin	5 dakika	30		

3.2. Seminifer Tübül Çaplarının Ölçümü

Testisteki hasarın bir göstergesi olarak Seminifer Tübül Çaplarının ölçümü de kullanıldı. Hemotoksilen-Eozin ile boyalı kesitlerde, Olympus BX51 mikroskobundaki Analysis LS Reserach programı kullanılarak seminifer tübül çapları ölçüldü ve ortalama tübül çapları hesaplandı. Seminifer tübül çapı ölçümü, her gruptan rastgele seçilmiş 10 farklı preparattan 10 farklı alandaki tübül çapları 20'lik objektifteki farklı alanlardan ölçülerek yapıldı. İstatistiksel analizler için SPSS paket programı kullanıldı.

3.3. Johnsen Testiküler Biyopsi Skoru

Bu skorlamaya göre, hasarlanmaya neden olan herhangi bir olay sonrasında, tübülün içindeki hücrelerin dağılımı belli bir sıra takip ederek progresif bir şekilde kaybolur. Tübüllerdeki bu hasarlanmanın derecesinin değerlendirilmesinde Johnsen Testiküler Biyopsi Skoru (JTBS) kullanıldı (Tablo 3.4). Histolojik incelemelerin sonuçları Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalında iki uzman histolog tarafından değerlendirildi. Her gruptan rastgele seçilmiş 10 farklı preparattan 20'şer

farklı tübül 20'lik objektifteki farklı alanlar incelenerek yapıldı. Her grup için ayrı ayrı 200 adet tübül değerlendirilerek ortalama Johnsen Testiküler Biyopsi Skoru (JTBS) hesaplandı. Gruplar arası istatistiksel karşılaştırmalar için SPSS paket programı kullanıldı. Elde edilen veriler önceden hazırlanan bir forma işlendi. Değerlendirme ölçütleri şöyleydi.

Tablo 3.4. Johnsen Testiküler Biyopsi Skorlaması

Skor	Histolojik Bulgular	Skor	Histolojik Bulgular
1	Tübüler kesitte hiçbir hücre yoktur.	6	Az sayıda (5/ tübül) spermatid mevcuttur.
2	Sadece sertoli hücreleri vardır.	7	Farklanma işareti olmaksızın fazla sayıda spermatid vardır.
3	Germ hücreleri olarak sadece spermatogonyumlar vardır.	8	Olgun spermatozoa olmaksızın geç spermatidler mevcuttur.
4	Az sayıda (5/ tübül) spermatosit vardır.	9	Az sayıda (5/ tübül) spermatozoa vardır.
5	Fazla sayıda spermatosit mevcuttur.	10	Fazla sayıda spermatozoanın görüldüğü tam spermatogenez mevcuttur.

3.4. TUNEL Metodu

Parafin bloklardan alınan 4-5 µm'lik kesitler polilizin kaplı lamlara yayıldı. Hazırlanan lamalar standart histolojik yöntemler kullanılarak ksilol ile parafini uzaklaştırıldı ve dereceli alkol serilerinden geçirilip sulandırıldı. PBS ile yıkama yapıldı. Oda sıcaklığında % 0.1'lik sodyum sitrat ve % 0.1'lik Triton X ile hazırlanan permabilizasyon solüsyonunda 1 saat boyunca inkübe edildi. İki kez beşer dakikada PBS ile yıkandıktan sonra karanlıkta 37 °C de TUNEL reaksiyon karışımında (TdT enzim solüsyonu + labelling solüsyon) 1 saat boyunca inkübe edildi. Tekrar PBS ile yıkama yapıldı. Daha sonra converter-AP ile 37 °C'de nemli ve karanlık ortamda 30 dak. muamele edildi. PBS ile iki defa beşer dk yıkanan dokular Fast Red solüsyonu ile inkübe edilerek apoptotik hücreler işaretlendi. Dokular gliserollü kapatma solüsyonu ile

kapatıldı. Negatif kontrolde pozitif kontrolle aynı hazırlandı ancak TUNEL reaksiyonunda TdT enzimi kullanılmadı.

Hazırlanan preparatlar 400x büyütmede ışık mikroskobu kullanılarak (Olympus BX51) incelendi. Enine kesilmiş testis dokularındaki immunreaktif hücrelerin sayısı özel bir oküler yardımıyla her örneğin en az beş bölümden 4 ila 5 alandan (1x1mm) gözlem yapılarak elde edildi.

3.5. İstatistiksel Analiz

Tüm istatistiksel analizler SPSS yazılım programında yapıldı. Veriler ortalama \pm standart sapma olarak belirlendi. Apoptotik hücre sayısı, seminifer tübül çapları ve Johnsen'in tübüler biyopsi skorları One-Way ANOVA yöntemiyle değerlendirildi. Post hoc analiz için Tukey testi kullanıldı. İstatistiksel anlamlılık $P < 0.05$ olarak tanımlandı.

4. BULGULAR

Çalışmamızda intraperitoneal, kadmiyum ve etil pirüvat uygulanan sıçan testisleri ışık mikroskopunda incelenerek değerlendirildi. Diseksiyon sonrasında kadmiyum grubuna ait testis dokularının makroskopik olarak mor renk aldığı saptandı. Diğer gruplarda herhangi bir değişikliğe rastlanmadı. Testis dokularında tübül çap ölçümü, Johnsen tübüler biyopsi skorlanması ve apoptotik hücre sayımı yapıldı istatistiksel olarak değerlendirildi. Tübüller histopatolojik olarak iki uzman histolog tarafından değerlendirildi.

4.1. Işık Mikroskopik Bulgular

Kontrol grubuna ait testis dokusu kesitlerinde tunika albuginea, seminifer tübül kontürleri, seminifer tübüllerin germinal epiteli ve interstisyel alanda bulunan Leydig hücreleri normal yapıda gözlendi (Şekil 4.1).

Etil pirüvat uygulanan sıçanların testis dokularında da kontrol grubuna benzer histolojik bulgulara rastlandı (Şekil 4.2).

Sadece kadmiyum uygulanan sıçanların testis dokularında germinal epitelde vakuol oluşumu (Şekil 4.3), bazı tübüllerde nekroz (Şekil 4.4), damarlarda konjesyon, hemoraji (Şekil 4.5), seminifer tübüllerin kontürlerinde ve germinal epitelinde düzensizlik gözlendi (Şekil 4.6).

Kadmiyum ile birlikte etil pirüvat uygulanan sıçanların testis dokuları da sadece kadmiyum uygulanan gruba benzer şekilde damarlarda konjesyon ve hemoraji, germinal epitelde vakuol oluşumu, seminifer tübüllerin kontürlerinde ve germinal epitelinde düzensizlik gözlendi (Şekil 4.7).

4.2. Seminifer Tübül Çapları Ölçüm Sonuçları

Testisler seminifer tübül çapları açısından incelendiğinde, sadece kadmiyum uygulanan gruptaki seminifer tübül çapları kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı derecede azalmıştı. Kadmiyum ile birlikte etil pirüvat uygulanan grupta ise tübül çaplarının sadece kadmiyum uygulanan gruba benzer olduğu belirlendi (Tablo 4.1).

Tablo 4.1: Seminifer tübül çapı ölçüm sonuçları. Değerler ortalama \pm standart sapma olarak verilmiştir. * Grup I ile karşılaştırıldığında $p < 0.05$

	Grup I	Grup II	Grup III	Grup IV
Seminifer tübül çapı (μm) (n=50)	342.58 \pm 2.21	267.11 \pm 1.76*	268.27 \pm 2.19	312.50 \pm 1.91

4.3. Johnsen Testiküler Biyopsi Skoru Sonuçları

Johnsen testiküler biyopsi sonuçları Tablo 4.2’de gösterilmiştir. Seminifer tübüllerdeki germinal epitelin değerlendirildiği Johnsen tübül biyopsi sonuçlarına göre kontrol ve sadece etil pirüvat alan gruplar birbirlerine yakın sonuçlar gösterdiler. Kadmiyum uygulanan grupta biyopsi skoru kontrol ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı şekilde azalmış olarak belirlendi. Kadmiyum ile birlikte etil pirüvat verilen gruptaki biyopsi skoru sadece kadmiyum uygulanan gruba göre sayısal olarak artmakla beraber bu artış istatistiksel olarak anlamlı değildi.

Tablo 4.2: Johnsen Testiküler Biyopsi Sonuçları. Değerler ortalama \pm standart sapma olarak verilmiştir. * Grup I ile karşılaştırıldığında $p < 0.05$

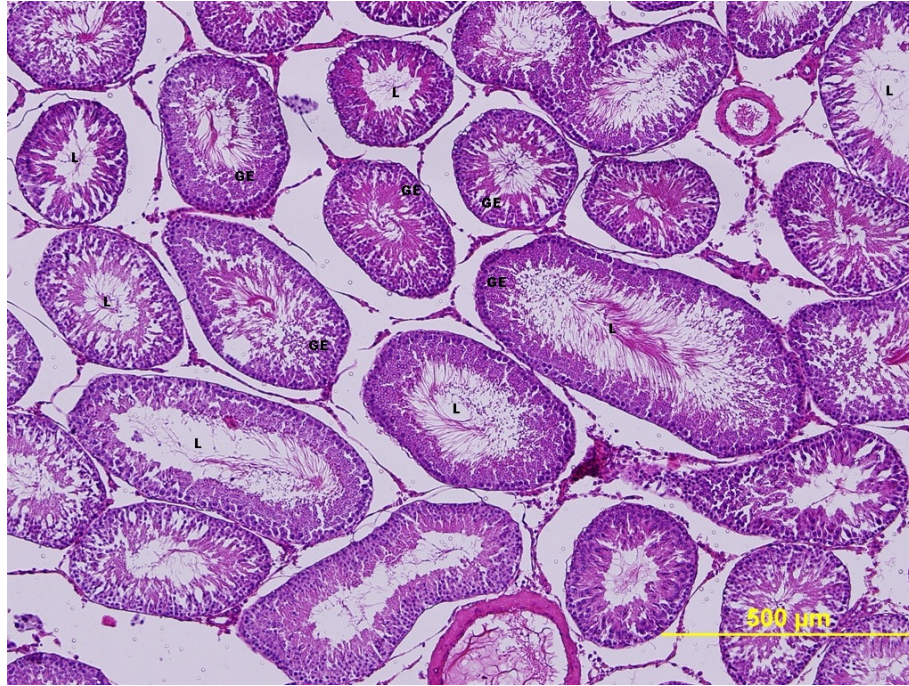
	Grup I	Grup II	Grup III	Grup IV
Johnsen biyopsi skoru (n:200)	9.08 \pm 0.08	5.46 \pm 0.12*	6.61 \pm 0.14	8.05 \pm 0.09

4.4. TUNEL Değerlendirmesi

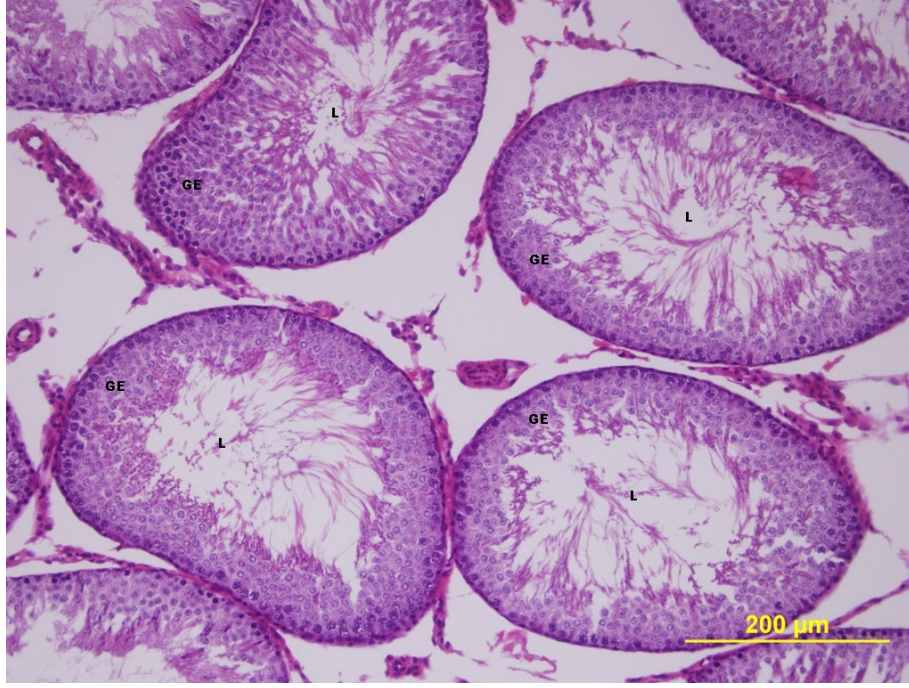
Apoptotik hücreler genellikle spermatogenetik seriye ait hücrelerde belirlendi (Şekil 4.8). Apoptotik hücre sayımı sonuçları tablo 4.3'te gösterilmiştir. Apoptotik hücre sayımı sonuçlarına göre kadmiyum uygulanan gruptaki apoptotik hücre sayısı kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış gösterdi. Koruyucu amaçlı verilen etil pirüvatın apoptotik hücre sayısını sadece kadmiyum uygulanan gruba göre istatistiksel olarak azalttığı gözlemlendi.

Tablo 4.3: Apoptotik Hücre Sayım Sonuçları. Değerler ortalama \pm standart sapma olarak verilmiştir. * Grup I ile karşılaştırıldığında $p < 0.001$; ** Grup II ile karşılaştırıldığında $p < 0.001$.

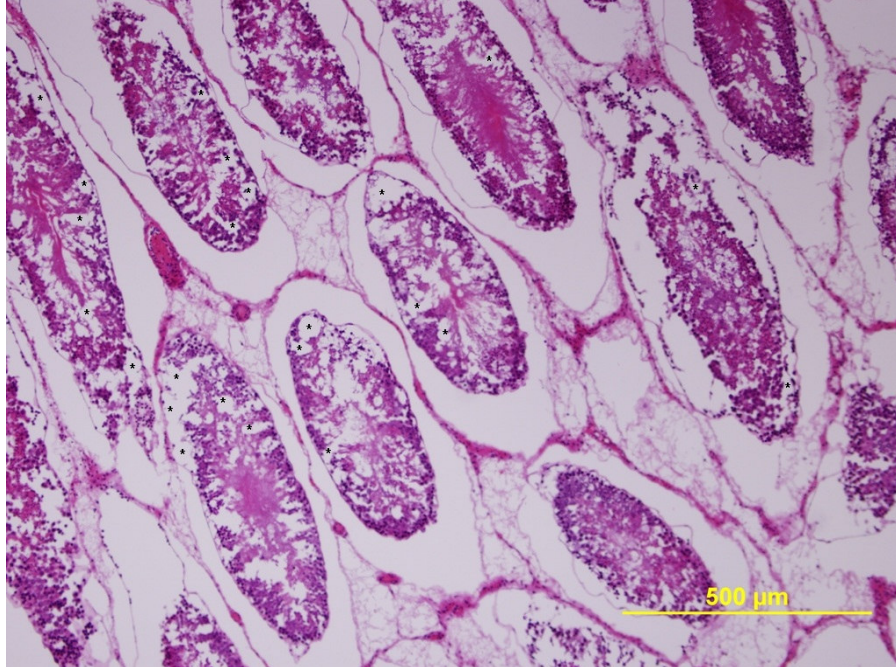
	Grup I	Grup II	Grup III	Grup IV
Apoptotik hücre sayısı (1x1 mm alandaki)	1.62 \pm 0.27	18.94 \pm 1.62*	4.46 \pm 0.66**	6.04 \pm 1.11



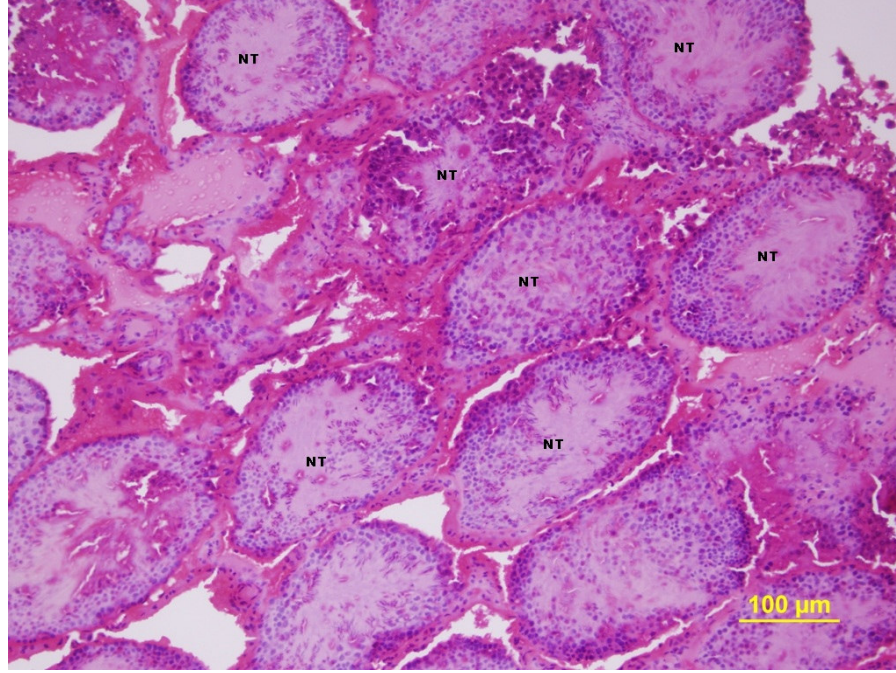
Şekil 4.1: Kontrol grubuna ait sıçan testis dokusu. Seminifer tübüllerdeki germinal epitel (GE) normal olarak gözlenmekte (H&E).



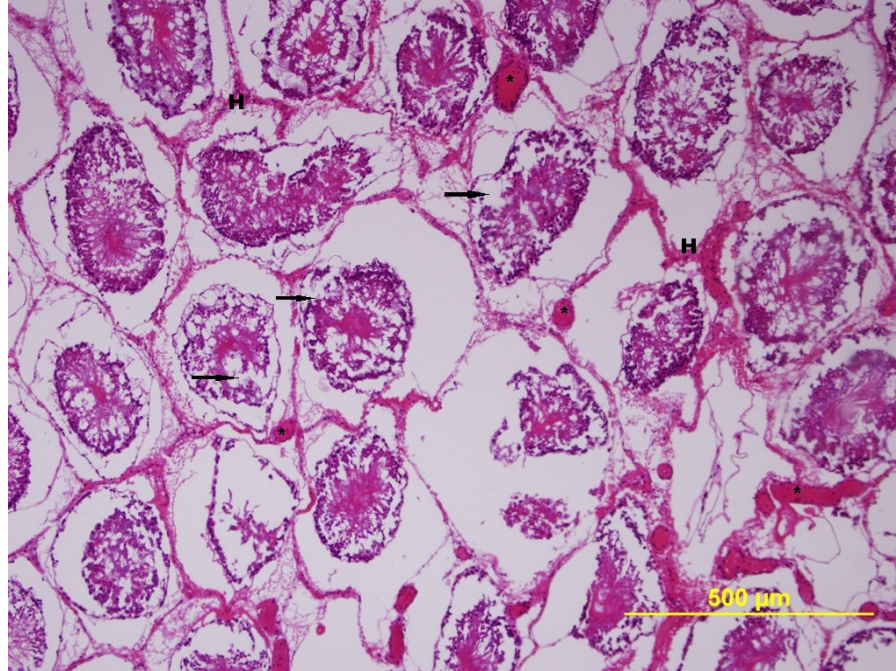
Şekil 4.2: Sadece etil pirüvat verilen gruba (Grup IV) ait testis dokusu. Seminifer tübüller normal olarak gözlenmekte. Germinal epitel (GE), lümen (L) (H&E).



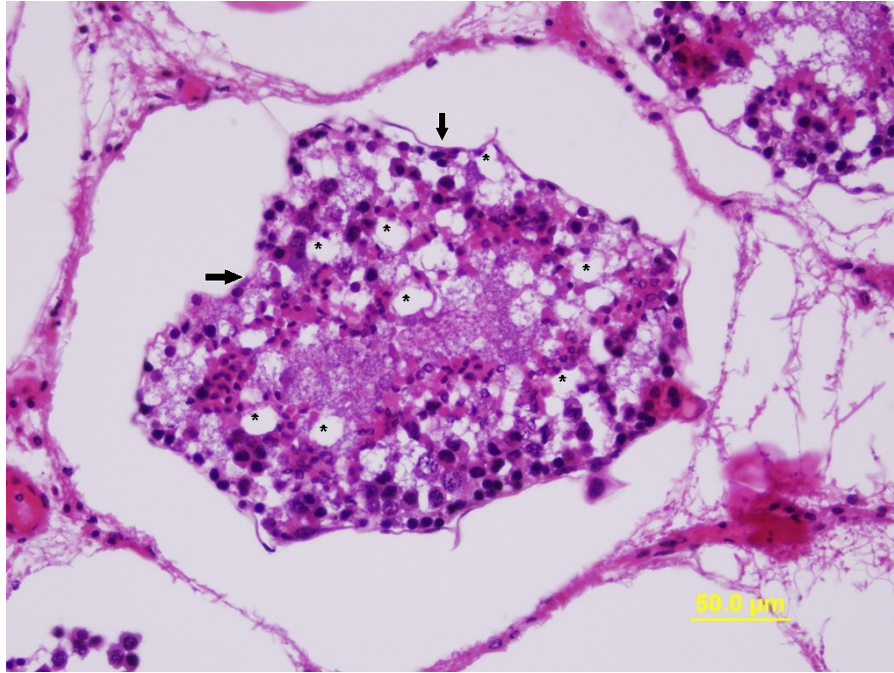
Şekil 4.3: Sadece kadmiyum uygulanan gruba (Grup II) ait testis dokusu. Seminifer tübül epitelinde hücreler arasında vakuol oluşumu görülmekte (*) (H&E).



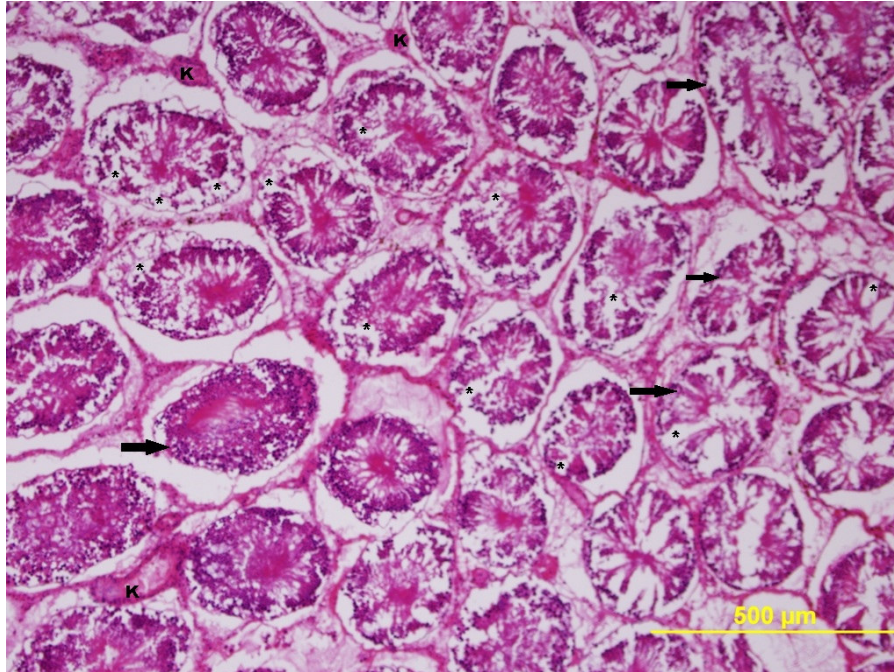
Şekil 4.4: Sadece kadmiyum uygulanan gruba (Grup II) ait testis dokusu. Seminifer tübüllerde nekrotik görünüm (NT) (H&E).



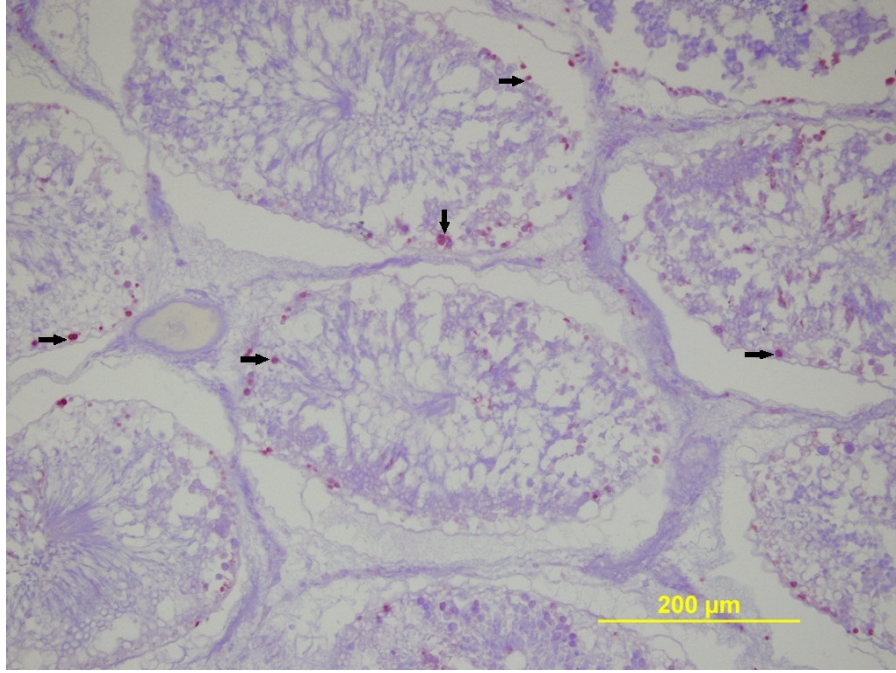
Şekil 4.5: Sadece kadmiyum uygulanan gruba (Grup II) ait testis dokusu. Damarlarda konjesyon (*), hemoraji (H), seminifer tübül germinal epitelinde düzensizlik ve epitel hücreleri arasında vakuol oluşumu (ok) görülmekte (H&E).



Şekil 4.6: Sadece kadmiyum uygulanan gruba (Grup II) ait testis dokusu. Seminifer tübül germinal epitelinde düzensizlik (ok) ve epitel hücreleri arasında vakuol oluşumu (*) görülmekte (H&E).



Şekil 4.7: Kadmiyumla birlikte etil pirüvat uygulanan gruba (Grup III) ait testis dokusu. Damarlarda konjesyon (K), seminifer tübül germinal epitelinde düzensizlik (ok) ve epitel hücreleri arasında vakuol oluşumu (*) görülmekte (H&E).



Şekil 4.8: Sadece kadmiyum uygulanan gruba (Grup II) ait testis dokusu. Seminifer tübüllerdeki germinal epitelde apopitotik hücreler (ok).

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Önemli endüstriyel ve çevresel kirleticilerden biri olan ve canlılar üzerindeki toksik etkileri bilinen kadmiyum, maden cevherlerinden doğrudan doğruya üretilmeyen ağır metallere dendir (35). Kadmiyum, diğer ağır metaller gibi hem çevresel hem de mesleki maruziyetlerle insan sağlığını tehdit etmektedir. Hızlı ve kontrolsüz endüstriyel gelişmeler nedeniyle kullanılan kadmiyum yiyecekler ve su gibi doğal kaynaklara karışmakta ve bu yolla besin zincirine girebilmektedir. Kadmiyum, düşük konsantrasyonda bile biyolojik sistemler üzerinde son derece zararlı bir etkiye sahiptir. Kadmiyumun düşük derişimleri duyarlı canlı türlerinde üremenin durmasına, gelişimin yavaşlamasına ve mortaliteye neden olabilmektedir. Kadmiyum bakterilerce ve mikroorganizmalarca yok edilebilen bir madde değildir ve oldukça uzun bir yarılanma ömrüne sahiptir. İnsanlarda da vücuttan atılma mekanizması olmadığı için çeşitli organlarda birikerek oldukça toksik etkiler gösterebilmektedir (22, 29). Artan endüstriyel gelişime bağlı olarak, kadmiyum ile temasın artması, canlılarda kanserojen ve oksidatif hasar gibi olumsuz etkilere neden olmaktadır. Dünyanın çeşitli bölgelerinde meydana gelen kanser oranları ve bundan dolayı meydana gelen ölümler araştırmacıların bu konuya ilgisini artırmıştır. Özellikle prostat kanserinin yoğun olduğu bölgelerde yapılan çalışmalarda kanserli kişilerin çoğunun mesleklerinden dolayı kadmiyuma maruz kalan insanlar olduğu ortaya çıkarılmıştır (29).

Yapılan deneysel çalışmalar göstermiştir ki, kadmiyumun maruz kalmaya bağlı olarak organlardaki dağılımı ve buna bağlı olarak aktivasyon bölgeleri değişmektedir (22, 33). Kadmiyumun enjeksiyon yoluyla ya da içme suyuyla oral olarak alınmasıyla; testiste,

prostatta, karaciğerde, akciğerlerde ve böbrek gibi organlarda şiddetli hasarlara sebep olduğu gösterilmiştir. Ancak bu hasarların şiddeti, kadmiyuma maruz kalma süresine ve kadmiyumun dozuna göre değişmektedir (33, 87-89).

Yüksek dozda kadmiyum maruziyetinin hem erkek hem de dişi sıçanlarda fertilitte bozukluklarına neden olduğu gözlenmiştir. Kadmiyumun intrauterin büyüme ve gelişmeyi etkilemesine bağlı olarak maruz kalan gebe sıçanların yavrularının daha küçük ve anemik doğdukları belirtilmiştir (90).

Kadmiyum, spermatogenez indeksinde azalmaya neden olurken sperm miktarını ve hareketliliğini olumsuz yönde etkilemektedir. Kadmiyum Sertoli hücreleri arasındaki bağlantı kompleksini bozarak spermatogenik seriye ait hücrelerde hasara neden olur ve spermatogenezi olumsuz etkiler. Kadmiyum germ hücrelerinde apoptoz ve nekroza sebep olmaktadır. Kadmiyumun sebep olduğu testiküler nekroz sonucu, kalıcı infertilite ortaya çıkabilmektedir. Testis dokusundaki kadmiyum seviyesi arttıkça, seminifer tübüllerdeki apoptozis oranı artmakta ve semen parametrelerindeki düzelme azalmaktadır (91-93).

Yapılan bir çalışmada 1 mg/ml intraperitoneal kadmiyum uygulamasından 24 saat sonra testislerde şiddetli ödem, daha uzun süreli uygulamalarda ise atrofi, tübüllerde nekroz ve tübüller arası bağ dokusunda fibrozis meydana geldiği belirtilmektedir (94).

Başka bir çalışmada 3.5 mg/kg kadmiyumun deri altına uygulanmasıyla testis dokusunda tunika albuginea kalınlaşma, interstisyel bağ dokusunda artış, tübüllerin çoğunda spermatogenik seriye ait olan hücrelerde önemli derecede azalma ve tübüllerin bazılarında ise hiyalin madde tespit edilmiştir. Ayrıca interstisyel bölgede normal yapıda Leydig hücresi gözlenmediği belirtilmiştir (95). Bir hafta boyunca deri altına yapılan kadmiyum uygulaması testis dokusunda damarlarda konjesyona, seminifer tübül epitelinde düzensizliğe neden olurken dört hafta boyunca deri altına uygulanan 1mg/kg kadmiyumun biyopsi skoru tübül çapı ve serum testosteron seviyelerini azalttığı tespit edilmiştir. Hücrelerdeki aktin kaybı ve apoptozis artışının testislerdeki kadmiyum doku konsantrasyonuna paralellik gösterdiği belirtilmiştir (96, 97).

Kadmiyumun, damar duvarındaki hücrelerarası bağlantı bölgelerinde açılmalara neden olarak damar geçirgenliğini arttırdığı ve bunun sonucunda kan akımında azalma ve sonrasında da dokularda hipoksi ve nekroz şekillendiği belirtilmektedir. Testiste bu

mekanizma, kadmiyumun etkisiyle geçirgenliği artan kan damarları nedeniyle interstisyel alandaki basıncın artması ve sonrasında da iskemik nekrozlara neden olması şeklindedir (32, 33, 98, 99).

Bizim yaptığımız çalışmada sadece kadmiyum uygulanan sıçanların testis dokularında germinal epitelde vakuol oluşumu, bazı tübüllerde nekroz, damarlarda konjesyon, hemoraji, seminifer tübüllerin kontürlerinde ve germinal epitelinde düzensizliğe rastlandı. Kadmiyum uygulanan grup kontrol grubu ile karşılaştırıldığında seminifer tübül çapı ve tübüler biyopsi skorunda istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlemlendi. Bizim elde ettiğimiz bu sonuçlar daha önce yapılan ve kadmiyumun testis dokusunda oluşturduğu hasar ile paralellik göstermektedir.

Antioksidanlar çeşitli hastalıkların oluşmasında tetikleyici rol oynayan “oksidatif stres” sonucu açığa çıkan serbest radikallerin üretilmesini engelleyerek canlı hücrelerde bulunan protein, lipid, karbohidrat ve DNA gibi okside olabilecek maddelerin oksidasyonunu önleyen veya geciktirebilen maddelerdir. Vücutta bulunan antioksidan savunma mekanizmaları, serbest radikalleri etkisiz hale getirmeye çalışır. Oksidatif stres kaynaklı rahatsızlığı bulunan hastalarda endojen kaynaklı antioksidanlar etkili olmadığından, oksidatif hasarı azaltabilmek için dışarıdan alınacak antioksidanlar kullanılmaktadır (Örn: Vitamin E,C, Melatonin). Ürogenital sistem üzerine yapılan çalışmalarda antioksidan tedavi ile lipid peroksidasyonun azalması; fertilizasyon oranlarının gelişmesiyle paralellik göstermektedir (97). Kadmiyum ile oluşan hasara oksidatif sistemin aracılık ettiği bilinmektedir. Bu nedenle antioksidan kullanılarak kadmiyum toksisitesinin azaltılmasına yönelik çok sayıda çalışma vardır.

Wang ve arkadaşlarının (100) yaptığı çalışmada düşük dozda kadmiyum uygulanan (0.4 mg/kg) ratlarda karaciğer, böbrek ve epididimis ağırlıkları değişmezken sperm özelliklerinde bozulma ve testislerin endokrin fonksiyonlarında yetersizlik gözlemlenmiş, buna karşı antioksidan olarak teoflavin uygulamasının kadmiyum tarafından indüklenen oksidatif stresi önleyici etkilerinin olduğu belirtilmiştir.

Ren ve arkadaşları kadmiyum kaynaklı olası spermatogenesis inhibisyonu ve sperm miktarındaki azlığa karşı uygulanan selenyumun koruyucu etkisinin testosteron seviyelerindeki artışa bağlı olduğunu belirtmişlerdir (101). Diğer bir çalışmada

selenyumun kadmiyumun neden olduğu histopatolojik, oksidatif, endokrin ve apoptotik hasara karşı önleyici etkisi tespit edilmiştir (102).

Ji ve arkadaşlarının (103) yaptığı bir çalışmada kadmiyum ile uyarılan oksidatif stres ve endoplazmik retikulum stresini azaltan melatoninin, testisteki kadmiyum kaynaklı germ hücrelerinin apoptozuna karşı önleyici etkisinin olduğu belirtilmiştir.

Shagirtha ve arkadaşları (104) 21 gün boyunca subkutan 3mg/kg kadmiyum uygulanan hayvanlara antioksidan ve metal bağlayıcı özelliği bulunan hesperetin uygulamışlar ve hesperetin kadmiyum kaynaklı oksidatif hasara karşı önemli derecede koruyucu etkisinin olduğunu tespit etmişlerdir. Bu çalışmada seminifer tübüllerin çoğunda aktif spermatogenez görölmüş, testis dokularının normal histolojik yapısının korunduğu belirtilmiştir.

Said ve arkadaşları (105) 35 gün boyunca içme sularıyla kadmiyuma maruz kalan hayvanların testis ve plazmalarındaki selenyum ve çinko konsantrasyonlarında, sperm miktarında ve motilitesinde, süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GSH-Px) enzim aktivitesindeki azalmaya karşı antioksidan olarak selenyum ve çinkonun birlikte uygulanmasının çinko veya selenyumun tek başına uygulanmasından daha etkili ve iyileştirici sonuçları olduğunu belirtmişlerdir.

Pirüvatın etkili bir serbest radikal temizleyicisi olarak tanımlanmasından sonra, araştırmacılar bu maddeyi farklı birçok patolojik durumların tedavisinde kullanmanın yollarını aramaya başlamışlardır. Bu konudaki en erken alışma Salahudden ve arkadaşları (79) tarafından yapılmıştır. Salahudden ve arkadaşları sıçanlar üzerinde yaptıkları deneysel çalışmada sodyum pirüvat solüsyonunun böbrek yetmezliğini önlediğini göstermişlerdir. Diğer araştırmacılar pirüvat ile tedavi sonucunda hayvan modellerinde miyokart, intestinal ve hepatik iskemiye takiben oluşan organ hasarının ve disfonksiyonunun düzeltililebildiğini göstermişlerdir (78, 106, 107). Ayrıca sıçanlar üzerinde yapılan çalışmalarda galaktoz ve diyabetle oluşturulan kataraktlarda, inmelerde, hemorajik şok ve galaktoz, fruktoz veya oksidan maddelerce oluşturulan lens hasarlarında pirüvatlı solüsyonlar verilerek etkili sonuçlar almışlardır (84, 108-113). Tüm bu olumlu bulgulara rağmen pirüvatın terapötik ajan olarak kullanılmasının gecikmesi pirüvatın solüsyonlar içinde stabil halde duramamasıdır. Solüsyonlarda pirüvat kendiliğinden parapirüvata indirgenir. Parapirüvatta kuvvetli bir mitokondrial

trikarboksilik asit siklüs inhibitörüdür. Bunun üzerine yapılan çalışmalarda Varma ve arkadaşları (114) pirüvatın ester halinde kalsiyum ve potasyum içeren dengeli solüsyonda (REPS) etkinliğini kaybetmeden saklanabileceğini göstermişlerdir.

Tawadrous ve arkadaşları (74) sıçanlar üzerinde yapılan hemorajik şok modelinde ringerli solüsyonla verilen etil pirüvatın organ hasarı üzerine olumlu sonuçları olduğunu bulmuşlardır. Yang ve arkadaşlarının (115) sıçanlarda yaptıkları çalışmada, ringerli solüsyonla verilen etil pirüvatın proinflamatuvar transkripsiyon faktörü, NF- κ B, NO Sentetaz, TNF, COX-2, IL-6 aktivitelerini azalttığını bildirmişlerdir. Bu bulgular etil pirüvatın antiinflamatuvar aktiviteye sahip olabileceğini göstermiştir. Etil pirüvat NF- κ B ve p38 mitojen aktif protein kinaz moleküllerinin aktivitelerini bloke etmektedir. Bu iki molekül hücre içi proinflamatuvar sinyal iletim zincirinde önemlidir. Etil pirüvatın endotoksemi ve sepsisle ilgili bir sitokin olan High Mobility Group 1'in (HMGB1) mRNA ekspresyonunu ve protein düzeyini azalttığı gösterilmiştir. Etil pirüvatın bir diğer etkisi de NF- κ B, transkripsiyon faktörünün p65 alt ünitesini, p38 aktivitesini ve lipid peroksidasyonunu inhibe ederek aşırı inflamasyonu engellemesidir (116).

Luan ve arkadaşları (117) , NF- κ B aktivasyonu inhibe etmek için bilinen bir ajan olan etil pirüvatın, akut pankreatite karşı koruyucu olduğunu ve deneysel akut pankreatit sıçan modellerinde HMG1 ve TNF- α proinfilamatuvar sitokinlerin üretimiyle pankreatik parenkimal hasarı azalttığını belirtmişlerdir.

Park ve arkadaşları (118) etil pirüvatın anjiyogenez ilişkili inflamasyon, sepsis, hemorajik şok, pıhtılaşma, ve iskemi / reperfüzyon dahil olmak üzere çeşitli hastalıkların, tedavisi için çok fonksiyonlu bir ilaç olarak yararlı olabilecek güçlü bir anti anjiyogenik aktiviteye sahip olduğunu, tümör anjiogenezisi ve inflamasyonu düzenlenleyerek tümör büyümesini ve anjiogenezi baskıladığını belirtmişlerdir.

Kung ve arkadaşları (119) çalışmalarında lipopolisakkarit uygulamasıyla oluşturulmuş yaygın intravasküler koagülasyonda etil pirüvatın anti-inflamatuvar etkisine bakmışlar ve etil pirüvatın tedavi edici etkiye sahip olduğunu belirtmişlerdir. Başka bir çalışmada lipopolisakkarit ile indüklenen deneysel akut akciğer hasarına karşı etil pirüvatın koruyucu etkisinin, ekstraselüler sinyal ile düzenlenen kinaz yolağı aktivasyonu ile etil pirüvat aracılı heme oksijenaz-1' in indüksiyonuna bağlı olabileceğini belirtmişlerdir (120).

Yang ve arkadaşları (121) yüksek doz acetaminophen uygulamasıyla oluşturulmuş karaciğer inflamasyonuna karşı etil pirüvatın erken dönemde koruyucu etkisinin olduğunu ancak uzun dönem anti inflamasyon tedavisinin faydalı olmadığını belirtmişlerdir.

Kaklıkkaya ve arkadaşları (122) yaptıkları çalışmada alt ekstremitede oluşturulan iskemi ve reperfüzyonun uzak organlarda neden olduğu hasarı ve bu hasara karşı koruyucu amaçlı verilen etil pirüvatın etkilerini incelemişlerdir. Bu amaçla incelenen akciğer dokusunda etil pirüvatın, lipid peroksidasyonunu azalttığı ve buna bağlı akciğer hasarına karşı koruyucu etkisinin olduğunu bildirmektedirler.

Türkmen ve arkadaşları (123) etil pirüvat ve N-asetilsisteinin (NAN) koruyucu etkilerini deneysel iskemi reperfüzyon modelinde testis dokusunda görmek için testiküler torsiyon-detorsiyon uygulaması yapmışlardır. Histopatolojik olarak Jhonson'un testiküler biyopsi skorlamasına bakıldığında olumlu etkileri görülse de iskemik serum albümin değerlerine (IMA) bakıldığında etil pirüvattan olumlu sonuç elde edilmediğinden, NAN'ın etil pirüvata göre daha etkili iyileştirici etkileri olduğunu belirtmişlerdir.

Payabvasha ve arkadaşları (124) etil pirüvatın sistemik ve yüksek dozlarda (3, 4 ve 5. gruplara 2'şer doz 20, 50, 100 mg/kg) uygulanmasının testis torsiyonundaki melondialdehit ve apoptotik indeksleri düşürdüğünü ve buna bağlı olarak hücresel hasarı azalttığını belirtmişlerdir. Aynı çalışmada 1 ay sonra etil pirüvatın antiapoptotik etkilerine bağlı olarak sperm sayısında ve hareketliliğinde iyileşme tespit etmişlerdir.

Biz de yaptığımız çalışmada kadmiyum ile oluşturulan hasarı engellemek için etil pirüvat uyguladık. Kadmiyum ile birlikte etil pirüvat uygulanan sıçanların testis dokularındaki seminifer tübüllerin kısmen normal olduğu gözlemlendi. Ancak bununla birlikte bazı tübüllerde lümen epitel hücre dökülmesi, seminifer tübüllerin kontürlerinde düzensizlik ve epiteller arası vakuol oluşumu devam etmekteydi.

Seminifer tübül çapı ölçüm sonuçlarında sadece kadmiyum verilen grupta kontrol grubuna göre belirgin derecede azalma gözlenirken, kadmiyum ile birlikte etil pirüvat verilen gruptaki biyopsi skoru sadece kadmiyum uygulanan gruba göre sayısal olarak artmakla beraber bu artış istatistiksel olarak anlamlı değildi.

Sonuç olarak kadmiyum birçok organı etkilediği gibi testis dokusunda da çok ciddi histopatolojik değişiklikler oluşturmaktadır. Bu hasarı engellemek için koruyucu amaçlı verilen etil pirüvatın testisteki histopatolojik skoru iyileştirici etkisi bulunmadı. Uygulanan doz ve sürenin arttırılmasıyla daha etkili sonuçlar elde edilebileceğine inanmaktayız.

6. KAYNAKLAR

1. Leoni G, Bogliolo L, Deiana G, et al. Influence of cadmium exposure on in vitro ovine gamete dysfunction. *Reprod Toxicol* 2002; 16: 371-377.
2. Tekelioğlu M. Özel Histoloji, İnce Yapı ve Gelişme, Erkek Üreme Sistemi. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayınları, Ankara 2002; 231-244.
3. Sab Dart ID. Committee Draft, Evidence um Developmental and Reproductive Toxicity of Cadmium. Reproductive and Cancer Hazard Assessment Section (RCHAS), 1996
4. Rencüzoğulları N, 2006. Ratlarda Deneysel Olarak Oluşturulan Kadmiyum Toksikasyonu Üzerine Likopenin Etkilerinin Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Mkü Sağ Bil Estitüsü.
5. Chung Ky, Park JJ, Kim YS. The Role of High-Mobility Group Box-1 In Renal Ischemia and Reperfusion Injury and the Effect of Ethyl Pyruvate. *Transplant Proc* 2008; 40:2136-8.
6. Undurti N. Das,. Is Pyruvate An Endogenous Anti-Inflammatory Molecule? *Nutrition* 2006; 22:965-72.
7. Uchiyama T, Delude RL, Fink MP. Dose-Dependent Effects of Ethyl Pyruvate In Mice Subjected to Mesenteric Ischemia and Reperfusion. *Intensive Care Med* 2003; 29:2050-8.
8. Undurti N. Das. Pyruvate Is an Endogenous Anti-Inflammatory And Anti-Oxidant Molecule. *Med Sci Monit* 2006; 12:79-84.

9. Özdamar S, Sorkun H. Genel Embriyoloji. Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayınları, Kayseri 2002; 4-6
10. Sadler TW. Langman's Medical Embryology, 5th Ed., William and Wilkins, Baltimore, 1985.
11. Moore KM, Persaud T.V.N. İnsan Embriyolojisi, 6. İngilizce Baskıdan Çeviri, Yıldırım M, Okar İ, Dağlık H. 1.Türkçe Baskı, Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul, Türkiye; 2002; 305-341.
12. Unur E, Ülger H, Ekinci N. Anatomi. Kıvılcım Kitabevi. Kayseri 2009
13. Eşrefoğlu M. Özel Histoloji. Medipres Matbaacılık, Malatya 2009; 978-975-6676-43-1
14. Ross MH, Pawlina W. Histology A Text And Atlas. 6th Ed. Baltimore, Philadelphia, Lippincott Williams and Wilkins, 2011; 784-816.
15. Junquera LC, Carneiro J, Kelley RO. Erkek Üreme Sistemi. Aytekin Y, Solakoğlu S. Temel Histoloji. 1. Baskı, İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri, 2005; 431-448.
16. Abraham L. Üreme Sistemi. Demir R. Histoloji ve Hücre Biyolojisi. 1. Baskı, Ankara: Palme Yayıncılık, 2006; 531-564.
17. Leeson CR, Leeson TS. Histology, 4.Baskı, Philadelphia, London, Toronto, WB. Saunders Company, 1981.
18. Kaya M, Polat S, Mete UÖ, Tap Ö, Özgür H. Özel Histoloji Ders Notları. Adana, Ç.Ü. Tıp Fakültesi Yayınları, 2006; 156-161.
19. Goyer R, Metals, In: Amdur Ed, Casarett and Doull's Toxicology, 4th. Ed,Mc Graw-Hill, Hinc, New York, Usa, Pp. 1991; 633-680.
20. Goyer, RA, Clarkson WT. Toxic Effects of Metals. Edited By Klaassen CD. Casarett And Doull's Toxicology, The Basic Science of Poisons, 6th Ed, Mcgraw-Hill, Usa, 2001; 811-827
21. Altındağ ZZ, Baydar T, Engin AB, Sahin G. Effects of The Metals on Dihydropteridine Reductase Activity. Toxicol In Vitro 17, (5-6), 2003; 533-537
22. Agency for Toxic Substances and Disease Registry (Atsdr), Toxicological Profile For Cadmium, Draft for Public Comment (Update). Public Health Service, Us Departmant of Health and Human Service, (1997)

23. Nordberg GF, Nogawa K, Nordberg M, Friberg LT, Cadmium. In: Handbook on The Toxicology Of Metals, Eds; Nordberg GF, Fowler BA, Nordberg M, Friberg L, 3rd Edition, Academic Press, New York, Usa, 2005; 445-486.
24. Kaya S, Akar F, Metaller, Diğer İnorganik ve Radyoetkin Maddeler. In: Kaya S, Pirinęci İ, Bilgili A. Editörler, Veteriner Hekimliğinde Toksikoloji. Medisan Yay, 2. Baskı, 2002; 207-250.
25. Olabarriete J, Lazou B, Yuric C, Cambar J, Cajaraville M, In Vitro Effects of Cadmium on Two Different Animal Cell Models. Toxicol In Vitro, 2001; 511-517.
26. Casalino E, Calzaretti G, Sblano C, Landriscina C, Molecular İnhibitory Mechanisms of Antioxidant Enzymes in Rat Liver And Kidney By Cadmium. Toxicol, 2002; 179, 37-50.
27. Bereket G, Yücel E, Monitoring of Heavy Metal Pollution of Traffic Origin in Eskişehir. Doğu-Tr J Chem, 14, 1990; 266-271.
28. Goyer R, Toxic Effect of Metals. In: Casarett and Doull's Toxicology. Mc-Graw And Hill Inc, Pp. 1996; 699-701.
29. Merian M. Cadmium and Their Compounds in The Environment, Vch, Weinheim, Ny, Basel, Cambridge, 1991; 803-851
30. Taylor J, Ennever FK. Cadmium, Atsdr Toxicological Profiles, Atlanta, Ga, Life Systems, Inc., Cleveland, April (1993)
31. Friberg L, Elinder CG, Kjellstrom T. Cadmium and Health: A Toxicological and Epidemiological Appraisal. Vol.2 Crc Press Boca Raton, Fl. 1986; 247-255
32. İlhan F. Evcil Hayvanlarda Testis Dejenerasyonları, YYÜ Vet. Fak. Derg., 2003; 14:51-56
33. Karataş S. Sıçanlarda Kadmiyum Klorürün (Kadmiyumcl₂) Testis Dokusuna Etkisi, Yüksek Lisans Tezi, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Şubat,1998
34. Friberg L. Cadmium and the Kidney. Environ Health Perspect, 1984;54, 1-11
35. Baldwin DR, Marshall WJ. Heavy Metal Poisoning and It's Laboratory Investigation. Ann Clin Biochem. 1999; 36:267-300.
36. Verougstraete V, Lison D, Hotz, P. Cadmium Lung And Prostate Cancer: A Systematic Review of Recent Epidemiological Data. J. Toxicol. Environ. Health B. Crit. Rev., 2003; 6:227-255

37. Brzoska, MM, Kaminski M, Supernak Bobko D, Zwierz K, Moniuszko Jakoniuk J. Changes in the Structure and Function of the Kidney of Rats Chronically Exposed to Cadmium. I. Biochemical and Histopathological Studies, Arch Toxicol. 2003; 77 :344-52
38. Liu J, Kadiiska MB, Corton JC, Qu W, Waalkes M, Mason RP, Liu Y, Klaassen CD. Acute Cadmium Exposure Induces Stress-Related Gene Expression In Wild-Type And Metallothionein-I/I₁-Null Mice. Free Radical Bio Med 32, 2002; 525-535
39. Murugavel P, Pari L, Sitasawad SL, Kumar S, Kumar S. Cadmium Induced Mitochondrial Injury and Apoptosis in Vero Cells: Protective Effect of Diallyl Tetrasulfide From Garlic. The International Journal of Biochemistry & Cell Biology 39, 2007; 161-170
40. Akman MŞ, 1976. Özel Toksikoloji, A.Ü. Veteriner Fakültesi Yayınları, Yayın No:320, Ders Kitabı No:220, Ankara.
41. El Demerdash FM, Yousef MI, Kedwany FS, Baghdadı HH. Cadmium Induced Changes in Lipid Peroxidation. Blood Hematology. Biochemical Parametres and Semen Quality of Male Rats: Protective Role of Vitamin E and Carotene. Food Chem Toxicol, 2004; 42.1563–1571
42. El Maraghy SA, Gad MZ, Fahim AT, Hamdy MA. Effect of Cadmium and Aluminum Intake on the Antioxidant Status and Lipid Peroxidation in Rat Tissues, J. Biochem. Mol. Toxicol., 2001; 15:207-214
43. Brzoska MM, Moniuszko Jakoniuk J. Interactions Between Cadmium and Zinc in the Organism. Food Chem Toxicology 2001; 39:967-980
44. Vahter M, Berglund M, Akesson A, Liden C. Metals and Women's Health. Environ Res 2002; 88:145-155
45. Smet H, Wachter B, Lobinski R, Blust R. Dynamics of (Cd, Zn)-Metallothioneins in Gills Liver and Kidney of Common Carp *Cyprinus Carpio* During Cadmium Exposure. Aqua Toxicol. 2001; 52:69-281.
46. Danielson KG, Ohi S, Huang PC. Immunochemical Detection of Metallothionein in Specific Epithelial Cells of Rat Organs. Proc Natl Acad Sci. 1982; 79: 2301-04.
47. Buckler H, Smith W, Rees W. Self Poisoning with Oral Cadmium Chloride. Br Med J. 1986; 292, 1559-60.

48. Brzoska, MM, Momuszko Jakoniuk J, Piat-Marcinkiewicz B, Saw CK, B. Liver and Kidney Function and Histology in Rats Exposed to Cadmium and Ethanol, Alcohol and Alcoholism Vol. 38, No. 1, 2003; 2–10
49. Koyuturk M., Yanardag R, Bolkent S, Tunali S. Influence of Combined Antioxidants Against Cadmium Induced Testicular Damage. Environ Tox Pharm 2006; 21:235-240
50. Koizumi T, Li Zg. Role of Oxidative Stress in Single Dose Cadmium Induced Testicular Cancer. J Toxicol Environ Health 1992; 37: 25- 36.
51. Lyon TD, Aughey E, Scott R, Fell GS. Cadmium Concentration in Human Kidney in the Uk: 1978-1993. J Environ Monit 1999; 227-31.
52. Koizumi T, Waalkes MP. Effects of Zinc on the Distribution and Toxicity of Cadmium in Isolated Interstitial Cells of the Rat Testis. Toxicology, 1989; 57:137-146
53. Maines MD. Characterization of Heme Oxygenase Activity in Leydig and Sertoli Cells of the Rat Testes: Differential Distribution of Activity and Response to Cadmium. Biochemical Pharmacology 1984; 33: 1493- 14502
54. Waisberg M, Joseph P, Hale B, Beyersmann D. Molecular and Cellular Mechanisms of Cadmium Carcinogenesis. Toxicology 2003; 192:95-117.
55. Paksy K, Varga B, Horvath E, Tatrai R, Ungvary G. Acute Effects of Cadmium on Preovulatory Serum FSH, LH and Prolactin Levels and on Ovulation and Ovarian Hormone Secretion in Oestrus Rats. Reprod Toxicol 1989; 3: 241-7.
56. Wier PJ, Miller RK, Maulik D, Di Sant'agnese Pa. Toxicity of Cadmium in the Perfused Human Placenta. Toxicol Appl Pharmacol 1990; 105: 156-71.
57. Bench G, Corzett MH, Martinelli R, Balhorn R. Cadmium Concentrations in the Testes, Sperm, and Spermatids of Mice Subjected to Long-Term Cadmium Chloride Exposure. Cytometry, 1999; 35:30-36.
58. Joel L. Marmar and Susan Benoff, Ultrason Rehberliğinde Testis Aspirasyon Biyopsisinin Emniyeti ve Varikosektomi Sonuçlarını Tahmin Etmede Verilerin Etkinliği. Human Reproduction Vol.20, No.8 2005; 2279-2288
59. Ren XY, Zhou Y, Zhang JP, Feng WH, Jiao BH. Metallothionein Gene Expression Under Different Time in Testicular Sertoli and Spermatogenic Cells of Rats Treated with Cadmium. Reprod Toxicol 2003; 17(2): 219-27.

60. Leoni G, Bogliolo L, Deiana G, et al. Influence of Cadmium exposure on in Vitro Ovine Gamete Dysfunction. *Reprod Toxicol* 2002; 16(4): 371-7.
61. Zeng X, Jin T, Zhou Y, Nordberg GF. Changes of Serum Sex Hormone Levels and MT mRNA Expression in Rats Orally Exposed to Cadmium. *Toxicology* 2003; 186: 109-18.
62. Yang JL, Chao JI, Lin JG. Reactive Oxygen Species May Participate in the Mutagenicity and Mutational Spectrum of Cadmium in the Chinese Hamster Ovary-K1 Cells. *Chem Res Toxicol* 1996; 9: 1360
63. Niewenhuis RJ, Fende PL, The Protective Effect of Selenium on Cadmium Induced Injury to Normal and Cryptorchid Testes in the Rat. *Biol Reprod*, 1978;19, 1-7.
64. Shiraishi N, Waalkes MP, Acquired Tolerance to Cadmium Induced Toxicity in Rodent Testes. *Toxicol Subs Mech*,1996; 15, 27-42.
65. Gupta RK, Barnes GW, Skelton FR, Light-Microscopic and Immunopathologic Observations on Cadmium Chloride Induced Injury in Mature Rat Testis. *American Soc Invest Pathol*, 1967; 51, 191-205.
66. Lermioğlu F, Bernard A, Effect of Calmodulin Inhibitors and Verapamil on the Nephrotoxicity of Cadmium in Rat. *Toxicol Let*, 1998; 95, 9-13.
67. Ognjanovic BI, Pavlovic SZ, Maletic SD, Zikic RV, Stajn AS, Radojicic RM, Saicic ZS, Petrovic VM, Protective Influence of Vitamin E on Antioxidant Defense System in the Blood of Rats Treated with Cadmium. *Physiol Res*, 2003; 52, 563-570.
68. Sk UH, Bhattacharya S. Prevention of Cadmium Induced Lipid Peroxidation, Depletion of Some Antioxidative Enzymes and Glutathione by A Series of Novel Organoselenocyanates. *Environ Toxicol Pharmacol*, 2006; 22, 298-308.
69. Montgomery CM, Webb JL. Metabolic Studies on Heart Mitochondria II. The Inhibitory Action of Parapyruvate on the Tricarboxylic Acidcycle. *J Biol Chem* 1956; 221:359-68.
70. Fink MP. Ethyl Pyruvate: A Novel Treatment for Sepsis. *Curr Drug Targets*. 2007 Apr;8:515-8.
71. Ethyl Pyruvate. [Http://Www.Chemblink.Com/Products/617-35-6.Html](http://www.chemblink.com/products/617-35-6.html) (Haziran 2010).

72. Holleman Maf. Note on the Action of Oxygenated Water on Alpha Ketoacids and 1,2, Diacetones. *Recl. Trav. Chim. Pays-Bas* 1904;23: 169-171.
73. Fink MP. Ethyl Pyruvate: A Novel Anti-Inflammatory Agent. *Jintern Med* 2007; 261:349-62.
74. Tawadrous ZS, Delude RL, Fink MP. Resuscitation from Hemorrhagic Shock with Ringer's Ethyl Pyruvate Solution Improves Survival and Ameliorates Intestinal Mucosal Hyperpermeability in Rats. *Shock* 2002; 17:473-7.
75. Bunton CA. Oxidation of A Diketones and A Keto Acids by Hydrogen Peroxide. *Nature* 1949; 163:144.
76. Nath KA, Ngo EO, Hebbel RP, Croatt AJ, Zhou B, Nutter Lm. A Ketoacids Scavenge H₂O₂ in Vitro and in Vivo and Reduce Menandione- Induced DNA Injury and Cytotoxicity. *Am J Physiol Cell Physiol* 1995; 268:227-36.
77. Dobsak P, Courdertot Masuyer C, Zeller M, et al. Antioxidative Properties of Pyruvate and Protection of the Ischemic Rat Heart During Cardioplegia. *J Cardiovasc Pharmacol* 1999; 34:651-9.
78. Cicalese L, Lee K, Schraut W, Watkins S, Borle A, Stanko R. Pyruvate Prevents Ischemia Reperfusion Mucosal Injury of Rat Small Intestine. *Am J Surg* 1999; 171:97-100.
79. Salahudeen AK, Clark EC, Nath KA. Hydrogen Peroxide Induced Renal Injury. A Protective Role for Pyruvate in Vitro and in Vivo. *J Clin Invest* 1991; 88:1886 - 93.
80. Liu YQ, Jetton TL, Leahy JL. B-Cell Adaptation to Insulin Resistance. Increased Pyruvate Carboxylase and Malate-Pyruvate Shuttle Activity in Islets of Nondiabetic Zucker Fatty Rats. *J Biol Chem* 2002; 277:39163-8.
81. Tsung A, Kaizu T, Nakao A et al. Etil Pyruvate Ameliorates Liver Ischemiareperfusion Injury by Decreasing Hepatic Necrosis and Apoptosis. *Transplantation* 2005; 79:196-204
82. Fink MP. Ethyl Pyruvate. *Curr Opin Anaesthesiol* 2008;21: 160- 167
83. Muller AJ, Duhadaway JB, Jaller D, Curtis P, Metz R, Prendergast GC. Immunotherapeutic Suppression of Ido and Tumor Growth with Ethyl Pyruvate. *Cancer Res* 2009; 70.
84. Lee JY, Kim YH, Koh JY: Protection by Pyruvate Against Transient Forebrain Ischemia in Rats. *J Neurosci* 2002; 21:1-6.

85. Yang R, Uchiyama T, Watkins SK, Han X, Fink MP. Ethyl Pyruvate Reduces Liver Injury in A Murine Model of Extrahepatic Cholestasis. *Shock* 2004; 22: 369–375
86. Varma SD, Hegde KR, Kovtun S. Oxidative Damage to Lens in Culture: Reversibility by Pyruvate and Ethyl Pyruvate. *Ophthalmologica* 2006; 220:52–7.
87. Suzuki Y. Cadmium Metabolism and Toxicity in Rats After Long-Term Subcutaneous Administration. *J.Toxicol. Environ. Health*, 1980; 6:469-482
88. Davison AG, Newman AJ, Taylor JD et al. Cadmium Fume Inhalation and Emphysema, *Lancet*, 1988; 26:663-667
89. Gavett SH, Oberdorster G. Cadmium Chloride and Cadmium Metallotionein-Induced Pulmonary Injury and Recruitment of Polymorphonuclear Leukocytes. *Exp. Lung. Res.*, 1994; 20:517-537
90. Kuriwaki J, Muneko N, Ryumon H, et al. Effects of Cadmium Exposure During Pregnancy on Trace Elements in Fetal Rat Liver and Kidney. *Toxicology Letters* 2005; 3:369-376.
91. Schwitters B, Masquellier J. *OPC in Practice: Bioflavanols and Their Application*. Alfa Omega Rome, Italy 1993.
92. Damek M, Poprawa A, Kapustab SK. Histopathological Changes in the Liver, Kidneys, and Testes of Bank Voles Environmentally Exposed to Heavy Metal Emissions from the Steelworks and Zinc Smelter in Poland. *Environmental Research* 2004; 96: 72–78.
93. Hew KW, Heath GL, Jiwa AH, et al. Cadmium in Vivo Causes Distruption of Tight Junction-Associated Microfilaments in Rat Sertoli Cells. *Biol Reprod* 1993; 49: 840-849.
94. Gouveia MA. The Testes in Cadmium Intoxication: Morphological and Vascular Aspects. *Andrologia* 1988; 20: 225-231.
95. Boscolo P, Sacchettoni-Logroscino G, Ranelletti FO, et al. Effects of Long Term Cadmium Exposure on the Testis of Rabbits, Ultrastructural Study. *Toxicoll Lett* 1985; 24: 145-9.
96. Aktas C, Kanter M, Erboga M, Ozturk S. Anti-Apoptotic Effects of Curcumin on Cadmium-Induced Apoptosis In Rat Testes. *Toxicol Ind Health*. 2012; 28:122-30.

97. Marmar JL, Benoff S. The Safety of Ultrasonically Guided Testis Aspiration Biopsies and Efficacy of Use to Predict Varicocele Outcome. *Human Reproduction* Vol.20, No.8 Pp. 2005; 2279-2288
98. Bergh ARJ. The Acute Vascular Effects of Cadmium in the Testis Do Not Require The Presence of Leydig Cells, *Toxicology*, 1990; 63:183-186
99. Niewenhuis RJ. Effects of Cadmium Upon Regenerated Testicular Vessels in the Rat, *Biology of Reproduction*,1980; 23, 171 -179
100. Wang W, Sun Y, Liu J, et al. Protective Effect of Theaflavins on Cadmium-Induced Testicular Toxicity in Male Rats. *Food And Chemical Toxicology* 2012 June
101. Ren XM, Wang G, Xu D, et al. The Protection of Selenium on Cadmium-Induced Inhibition of Spermatogenesis Via Activating Testosterone Synthesis In Mice. *Food Chem. Toxicol.* 2012.
102. Li JL, Gao R, Li S, et al. Testicular Toxicity Induced by Dietary Cadmium in Cocks And Ameliorative Effect by Selenium. 2010; 23:695-705.
103. Ji YL, Wang H, Meng C, et al. Melatonin Alleviates Cadmium-Induced Cellular Stress And Germ Cell Apoptosis In Testes. *J. Pineal Res.* 2012; 52:71-79
104. Shagirtha K, Pari L. Hesperetin, A Citrus Flavonone, Protects Potentially Cadmium Induced Oxidative Testicular Dysfunction In Rats. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 2011; 74, 2105-2111
105. Said L, Banni M, Kerkeni A et al. Influence of Combined Treatment with Zinc and Selenium on Cadmium Induced Testicular Pathophysiology In Rat. *Food and Chemical Toxicology* 2010; 48, 2759-2765
106. Bungler R, Mallet RT, Hartman DA: Pyruvate Enhanced Phosphorylation Potential and Inotropism in Normoxic and Postischemic Isolated working Heart: Near-Complete Prevent Ion of Reperfusion Contractile Failure. *Eur J Biochem* 1989; 180:221- 233.
107. Sileri P, Schena S, Morini S, et al: Pyruvate Inhibits Hepatic Ischemia-Reperfusion Injury In Rats. *Transplantation* 2001; 72:27-30.

108. Zhao W, Devamanoharan PS, Henein M, et al: Diabetes-Induced Biochemical Changes in Rat Lens: Attenuation of Cataractogenesis By Pyruvate. *Diabetes Obes Metab* 2000; 2:165–174.
109. Slovin PN, Huang CJ, Cade JR, et al. Sodium Pyruvate Is Better Than Sodium Chloride as a Resuscitation Solution in a Rodent Model of Profound Hemorrhagic Shock. *Resuscitation* 2001; 50:109–115.
110. Mongan PD, Capacchione J, Fontana JL, et al: Pyruvate Improves Cerebral Metabolism During Hemorrhagic Shock. *Am J Physiol* 2001; 281:H854–H864.
111. Mongan PD, Fontana JL, Chen R, et al: Intravenous Pyruvate Prolongs Survival During Hemorrhagic Shock In Swine. *Am J Physiol* 1999; 277:H2253–H2263.
112. Varma SD, Devamanoharan PS, Rutzen AR, et al: Attenuation of Galactose-Induced Cataract by Pyruvate. *Free Rad Res* 1999; 30: 253–263.
113. Zhao W, Devamanoharan PS, Varma SD: Fructose Induced Deactivation of Antioxidant Enzymes: Preventive Effect of Pyruvate. *Free Rad Res* 2000; 33:23–30.
114. Varma SD, Devamanoharan PS, Al I. Ah: Prevention of Intracellular Oxidative Stress to Lens by Pyruvate and Its Ester. *Free Rad Res* 1998; 28:131–135.
115. Yang R, Gal Lo DJ, Baust JJ, et al: Ethyl Pyruvate Modulates Inflammatory Gene Expression in Mice Subjected to Hemorrhagic Shock. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2002; 283:G212–G22.
116. Fink MP, Ethyl Pyruvate; A Novel Anti-Inflammatory Agent. *Crit. Care. Med* 2003 Vol 31 No:1.
117. Luan ZG, Ma XC, Zhang H, et al. Protective Effect of Ethyl Pyruvate on Pancreas Injury in Rats with Severe Acute Pancreatitis. 2012; 05.066
118. Park SY, Yi EY, Jung M, et al. Ethyl Pyruvate, An Anti Inflammatory Agent, Inhibits Tumor Angiogenesis Through Inhibition of the NF- κ B Signaling Pathway. *Cancer Letters* 303 2011; 150–154
119. Kung CW, Lee YM, Yen MH. In Vivo Anticoagulant Effect of Ethyl Pyruvate in Endotoxemic Rats. *Thrombosis Research* 127 2011; 582–588
120. Kung CW, Lee YM, Cheng PY et al. Ethyl Pyruvate Reduces Acute Lung Injury Via Regulation of Inos and HO-1 Expression in Endotoxemic Rats. *Journal of Surgical Research* 2011; 167, E323–E331

121. Yang R, Zou X, Koskinen ML, et al. Ethyl Pyruvate Reduces Liver Injury at Early Phase But Impairs Regeneration At Late Phase in Acetaminophen Overdose. *Critical Care* 2012, 16:R9
122. Kaklıkaya I, Mentşe I, Koromaz I, et al. Results Of Ethyl Pyruvate Application In An Experimental Ischemia Reperfusion Model. *Turkish J Thorac Cardiovasc Surg* 2010; 18(4):310-314
123. Türkmen S, Mentşe A, Karagüzel E, et al. A Comparison of the Effects of N-Acetylcysteine and Ethyl Pyruvate on Experimental Testicular Ischemia-Reperfusion Injury. *Reproductive Biology*. 2012; 0015-0282
124. Payabvasha S, Kiumehra S, Tavangarb SM, et al. Ethyl Pyruvate Reduces Germ Cell-Specific Apoptosis and Oxidative Stress in Rat Model of Testicular Torsion/Detorsion. *Journal Of Pediatric Surgery* 2008; 43, 705–712

ERCİYES ÜNİVERSİTESİ HAYVAN DENEYLERİ
YEREL ETİK KURUL BAŞKANLIĞI
KAYSERİ-TÜRKİYE

ETİK KURULUN ADI : Erciyes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanlığı

ETİK KURULUN ADRESİ : Erciyes Üniversitesi

Tarih: 09.02.2011

Toplantı Sayısı: 02

Karar No: 11/14


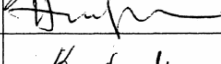
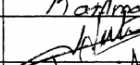

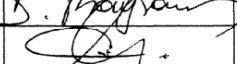


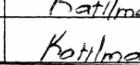
Etik kurul toplantısı

09.02.2011

tarihinde Erciyes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel

Etik Kurul

Prof.Dr.Zübeyde GÜNDÜZ Başkanlığı'nda başkanlığında gerçekleştirilmiş

Üye Adı/Soyadı	Akademik Ünvanı	Fakültesi	
Zübeyde Gündüz	Prof. Dr.	Tıp Fakültesi	
Harun Ülger	Prof. Dr.	Tıp Fakültesi	
Özlem Canöz	Prof.Dr.	Tıp Fakültesi	Katılmadı
Hatice Özbilge	Doç. Dr.	Eczacılık Fakültesi	
Servet Kesim	Yrd. Doç. Dr.	Diş Hekimliği Fakültesi	
Davut Baran	Öğrt.Gör.Dr.	Veteriner Fakültesi	
Coşkun Tez	Doç. Dr.	Fen Fakültesi	
M. Betül Aycan	Yrd. Doç. Dr.	Eczacılık Fakültesi(Farmakoloji)	
Ahmet Öztürk	Öğrt.Gör.Dr		
Serap Altuntaş Eroğlu	Avukat		Katılmadı
Halil Tekiner	Eczacı		Katılmadı

Üniversitemiz Tıp Fakültesi Yrd. Doç.Dr.Fatih SÖNMEZ tarafından yapılan "Sıçan Testis Dokusunda Kadmiyum İle Oluşturulan Hasarı Üzerine Etil Pirüvatın Etkilerinin araştırılması" adlı araştırması incelenerek çalışmanın yapılmasının uygun olacağına ve rektörlük makamına sunulmasına oy birliğiyle karar verildi

Tarih : 09.02.2011

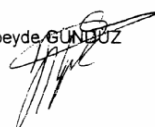
Etik Kurul Başkanı İmzası

Etik Kurul Başkanı : Prof.Dr.Zübeyde GÜNDÜZ

ASLINA KATILDIR

Dekan Sekreteri

Brjül Kocaman



ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı, Soyadı: Ayça KARA

Uyruğu: Türkiye (TC)

Doğum Tarihi ve Yeri: 15.08.1985/ KAYSERİ

Medeni Durumu: Bekar

Email: aycakaraa@gmail.com

Yazışma Adresi: Erciyes Üni. Tıp Fakültesi Histoloji Embriyoloji AD. KAYSERİ

EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet Tarihi
Lisans	E.Ü. Fen Fakültesi Biyoloji	2009
Lise	Sema Yazar Anadolu Lisesi	2003

İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	Kurum	Görev
2012-halen	Erciyes Üniversitesi	Araştırma Görevlisi

YABANCI DİL

İngilizce