



**CURCUMİN'İN FARKLI UYGULAMA DOZLARININ RAT
SPERMASINDAKİ AQP3 VE AQP7 PROTEİNLERİ
ÜZERİNE ETKİNLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI**

Ahmet KARAHANLI

Dölerme ve Suni Tohumlama Anabilim Dalı

**Tez Danışmanı
Prof. Dr. Ali Doğan ÖMÜR**

Yüksek Lisans Tezi-2025



SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Graduate School of Health Sciences

**CURCUMİN'İN FARKLI UYGULAMA DOZLARININ
RAT SPERMASINDAKİ AQP3 VE AQP7 PROTEİNLERİ
ÜZERİNE ETKİNLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI**

Ahmet KARAHANLI

**Dölerme ve Suni Tohumlama Ana Bilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi**

**Tez Danışmanı
Prof. Dr. Ali Doğan ÖMÜR**

ERZURUM

2025

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER	I
TEŞEKKÜR	IV
ÖZET	V
ABSTRACT.....	VI
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	VII
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VIII
TABLolar DİZİNİ.....	IX
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Sıçanlarda Erkek Üreme Sistemi Anatomisi ve Fizyolojisi.....	4
2.2. Spermatogenez Süreci: Moleküler ve HücreSEL Mekanizmalar.....	8
2.3. Spermatozoonun Yapısı.....	10
2.3.1 Baş Bölgesi	11
2.3.2 Boyun (Bağlayıcı Parça) Bölümü	11
2.3.3 Kamçı (Flagellum) Bölümü	12
2.4. Erkek Üremesinde Gonadotropinler ve Steroid Hormonlar	13
2.4.1. Gonadotropin Salgılatıcı Hormon (GnRH).....	13
2.4.2. Folikül Uyarıcı Hormon (FSH).....	13
2.4.3. Luteinizan Hormon (LH)	14
2.4.4. Testosteron.....	15
2.5. Kurkumin: Kimyasal Yapı ve Biyolojik Aktiviteler.....	15
2.6. Aquaporinler ve Sperm Fizyolojisi.....	19
2.6.1. AQP3 ve AQP7'nin Yapısı ve Lokalizasyonu	20
2.6.2. AQP3 ve AQP7'nin Fonksiyonel Rollerini	22

2.7. Sperm Hücresinde Oksidatif Stres, Enflamasyon ve Apoptoz.....	23
2.8. Sperm Hücresinde Kriyoprezervasyon Süreci	26
3. MATERYAL VE METOT.....	29
3.1. Etik kurul, Kimyasallar ve Materyal.....	29
3.2. Biyokimyasal Analizler	30
3.2.1. Western Blot Analizi	30
3.3. Histopatolojik Analizler.....	31
3.4. Relatif Üreme Organ Ağırlıkları.....	32
3.5. Sperma Analizleri	32
3.5.1. Sperm DNA Hasarı Oranının Belirlenmesi	33
3.6. İstatiksel Analizler	33
4. BULGULAR.....	34
4.1. Genel Vücut ve Üreme Organ Ağırlıkları.....	34
4.2. Spermatolojik Parametreler	34
4.2.1. Motilite.....	35
4.2.2. Plazma Membran Hasar Oranı.....	35
4.2.3. Anormal Spermatozoon Oranı	35
4.2.4. DNA Fragmantasyon Oranı	35
4.3. Western Blot Analizi Sonuçları	36
4.4. Histopatolojik Analizler.....	38
5. TARTIŞMA.....	40
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	50
KAYNAKLAR	52
EKLER	72
EK-1. Etik Bildirim ve İntihal Beyan Formu.....	72



TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tezi olarak sunduğum bu çalışmayı, değerli bilgi ve katkıları ile yöneten, tezimin her aşamasında yardımlarını esirgemeyen hocam Sayın Prof. Dr. Ali Doğan ÖMÜR'e en derin saygı ve şükranlarımı sunarım

Dölerme ve Suni Tohumlama Anabilim dalı öğretim üyesi Doç. Dr. Serkan Ali AKARSU'ya, Araş. Gör. Gamze UÇAK'a çalışma sırasındaki yardımları için Yüksek lisans öğrencilerinden Belkıs KAMER ve Ahmet YÖRÜ'ye saygı ve şükranlarımı sunarım. Çalışmamızı TYL-2024-14338 proje kodu ile destekleyen Atatürk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri birimine ve gerekli kolaylıkları sağlamaları sebebiyle Tıbbi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi birimi yöneticilerine teşekkürü bir borç bilirim. Yüksek lisans eğitimim boyunca maddi ve manevi destekleri için aileme teşekkürü bir borç bilirim.

Ahmet KARAHANLI

ÖZET

Curcumin'in Farklı Uygulama Dozlarının Rat Spermasındaki AQP3 ve AQP7 Proteinleri Üzerine Etkinliğinin Araştırılması

Amaç: Bu çalışmada, kurkuminin sıçan spermünde aquaporin-3 (AQP3) ve aquaporin-7 (AQP7) ekspresyonu ile sperm kalite parametreleri üzerindeki doza bağlı etkileri araştırılmıştır.

Materyal ve Metot: Toplam 28 Sprague Dawley erkek sıçan dört gruba ayrılmıştır. Kontrol (Tween 80), düşük doz (100 mg/kg), orta doz (500 mg/kg) ve yüksek doz (1500 mg/kg). Kurkumin 28 gün boyunca oral yolla uygulanmıştır. Deney sonunda testis ve epididimis dokuları toplanmış; histopatolojik inceleme, Western blot analizi ve spermatolojik değerlendirmeler (motilite, plazma membran hasarı, DNA fragmentasyonu) gerçekleştirilmiştir. Veriler SPSS v26 ile analiz edilmiştir.

Bulgular: Yüksek doz grubu plazma membran hasarını (%21,14) ve anormal spermatozoa oranını (%9,42) artırmıştır. Orta doz DNA fragmentasyonunu en düşük seviyede tutarken (%8,57), düşük ve yüksek dozlar bu oranı artırmıştır. Tüm kurkumin gruplarında motilite kontrol grubuna göre azalmıştır. AQP3 ekspresyonu orta ve yüksek dozlarda artarken, AQP7 düşük dozda artış, yüksek dozda ise azalma göstermiştir. Histopatolojik olarak yüksek doz grubunda belirgin testiküler hasar gözlenmiştir.

Sonuç: Kurkuminin etkileri doza bağımlıdır. Orta doz (500 mg/kg) DNA bütünlüğünü korurken, düşük ve yüksek dozlar sperm kalitesini olumsuz etkilemiştir. AQP3 ve AQP7 ekspresyonundaki değişiklikler, kurkuminin spermatozoa fizyolojisi üzerindeki potansiyel düzenleyici etkilerini desteklemektedir.

Anahtar Kelimeler: Aquaporin, kurkumin, oksidatif stres, sıçan, sperm, kriyoprezervasyon.

ABSTRACT

Investigation of the Effects of Different Doses of Curcumin on AQP3 and AQP7 Proteins in Rat Sperm

Aim: This study aimed to investigate the dose-dependent effects of curcumin on aquaporin-3 (AQP3) and aquaporin-7 (AQP7) expression and sperm quality in rats.

Materials and Methods: A total of 28 male Sprague Dawley rats were divided into four groups: Control (Tween 80), low dose (100 mg/kg), medium dose (500 mg/kg), and high dose (1500 mg/kg). Curcumin was administered orally for 28 days. At the end of the experiment, testis and epididymal tissues were collected for histopathological examination, Western blot analysis, and spermatological assessments, including motility, plasma membrane integrity, and DNA fragmentation. Data were analyzed using SPSS v26.

Results: The high-dose group exhibited increased plasma membrane damage (21.14%) and abnormal spermatozoa rate (9.42%). The medium dose maintained the lowest DNA fragmentation level (8.57%), whereas low and high doses increased it. Sperm motility decreased in all curcumin-treated groups compared to the control. AQP3 expression increased in the medium and high doses, while AQP7 expression increased at the low dose but decreased at the high dose. Histopathological evaluation revealed marked testicular damage in the high-dose group.

Conclusion: The effects of curcumin on sperm parameters and aquaporin expression are dose-dependent. Medium dose (500 mg/kg) preserves DNA integrity, whereas low and high doses negatively affect sperm quality. Changes in AQP3 and AQP7 expression suggest potential regulatory roles of curcumin in spermatozoa physiology.

Keywords: Aquaporin, curcumin, oxidative stress, rat, sperm, cryopreservation.

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ANOVA	: Varyans analizi
AQP	: Aquaporin (Su kanalı proteini)
AQP3	: Aquaporin-3 (Su, gliserol ve H ₂ O ₂ taşıyan akuagliseroprin)
AQP7	: Aquaporin-7 (Su ve gliserol taşıyan akuagliseroprin)
COX-2	: Siklooksijenaz-2 (İnflamasyon belirteci enzim)
DNA	: Deoksiribonükleik asit
FSH	: Folikül Uyarıcı Hormon
GnRH	: Gonadotropin Salgılatıcı Hormon
H₂O₂	: Hidrojen Peroksit
IL-6 / IL-1β	: İnterlökin-6 / İnterlökin-1 Beta (İnflamatuvar sitokinler)
LH	: Luteinizan Hormon
MDA	: Malondialdehit (Lipit peroksidasyon belirteci)
Mg/kg	: Miligram / kilogram (Doz birimi)
μm	: Mikrometre (Uzunluk birimi)
Nrf2	: Nükleer faktör eritroid 2 ile ilişkili faktör 2 (Antioksidan yanıt)
OS	: Oksidatif Stres
PBS	: Fosfat Tamponlu Salin (Phosphate Buffered Saline)
PPARγ	: Peroksizom Proliferatör ile Aktive Olan Reseptör Gama
PVDF	: Poliviniliden Florür (Western Blot membranı)
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri (Reactive Oxygen Species)
SDS-PAGE	: Sodyum Dodesil Sülfat Poliakrilamid Jel Elektroforezi
SEM	: Standart Hata Ortalaması (Standard Error of the Mean)
SPSS	: Statistical Package for the Social Sciences (İstatistik yazılımı)
TNF-α	: Tümör Nekroz Faktörü-Alfa
WB	: Western Blot

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil No

Sayfa No

- Şekil 4.1.** Rat spermatozoalarının Acridine Orange ile boyanmış floresan mikroskop görüntüsü..... 36
- Şekil 4.2.** Farklı doz gruplarında (kontrol, düşük, orta, yüksek) AQP3 (üst bant), AQP7 (orta bant) ve yükleme kontrol proteini (β -Tubulin) (alt bant) ekspresyonunu gösteren Western Blot görüntüleri 37
- Şekil 4.3.** Crossman'ın Modifiye Ettiği Mallory'nin Üçlü Boyaması ile boyanmış testis seminifer tübülleri..... 39
- Şekil 4.4.** Cosentino skorlama sistemine göre testis histolojisinin değerlendirilmesi.... 39

TABLULAR DİZİNİ

Tablo No

Sayfa No

Tablo 4.1. Spermatolojik analiz sonuçları 34

Tablo 4.2. Dört farklı doz grubunda AQP3 ve AQP7 protein ekspresyon düzeyleri 37



1. GİRİŞ

Su ve küçük moleküllerin hücrelerarası taşınmasında görev alan integral membran proteinleri olan aquaporinler (AQP), memelilerde 13 izoform hâlinde bulunmakta; bunlardan aquagliseroprinler (AQP3, AQP7, AQP9, AQP10) hem su hem de gliserol permeabilitesi göstermektedir (Azad ve ark., 2021). Özellikle AQP3 ve AQP7, spermatozoaların olgunlaşması, hareketliliği ve fertilizasyon kapasitesinde kritik rol oynamaktadır (Moretti ve ark., 2012; Prieto-Martinez, Vilagran, ve ark., 2017). AQP7, gliserol taşınımı aracılığıyla spermatozoaların enerji metabolizması ve osmoregülasyon süreçlerinde; AQP3 ise su, gliserol ve hidrojen peroksit (H₂O₂) taşınımı ile hücre sel volüm düzenlemesi ve oksidatif stres yanıtında görev alır (Zhu ve ark., 2023). Bu özellikleri nedeniyle AQP3 ve AQP7, sperm kriyotoleransı belirteçleri olarak da önerilmekte; düşük ekspresyonları dondurma-çözme işlemleri sırasında hücre zar bütünlüğünün bozulmasıyla ilişkilendirilmektedir (Prieto-Martinez, Vilagran, ve ark., 2017).

Zingiberaceae familyasına ait çok yıllık bir bitki olan *Curcuma longa* L. (zerdeçal) köklerinden elde edilen sarı renkli bir bileşik olan kurkumin, güçlü antioksidan, anti-enflamatuar, antikanser ve antidiyabetik özellikleriyle tanınmaktadır (Araujo & Leon, 2001; Priyadarsini, 2014; Verkman, 2013). Kurkuminin, çeşitli iyon kanalları ve taşıyıcı proteinlerin ekspresyonunu ve fonksiyonunu düzenleyebildiği gösterilmiştir; bu durum aquaporin kanalları için de geçerlidir. Bir araştırmada, kurkuminin AQP1 ekspresyonunu kültürlenmiş rat koroid pleksus hücrelerinde doza bağlı olarak azalttığı bildirilmiştir (Nabiuni ve ark., 2013). Benzer şekilde, kurkuminin AQP3 ekspresyonunu düşürdüğü ve hücre sel permeabiliteyi modüle ettiği çalışmalar da mevcuttur (Bhattacharjee ve ark., 2024; Pellavio ve ark., 2017). Bu veriler, kurkuminin aquaporinler aracılığıyla hücre sel osmoregülasyon ve oksidatif stres mekanizmalarını düzenleyebileceğine dair bulgulardır.

Üreme sistemi açısından, sperm dondurma işlemi sırasında artan oksidatif stres ve hücre zarındaki hasar, spermin dölleme yeteneğini olumsuz etkilemektedir. Kurkuminin antioksidan özellikleri, sperm sağlığını destekleyerek dondurmaya karşı direncini artırarak bu olumsuz etkileri azaltma potansiyeline sahiptir (Santonastaso ve ark., 2021). Ancak, farklı dozlardaki kurkumin uygulamalarının AQP3 ve AQP7 proteinlerinin ekspresyonu, lokalizasyonu ve işlevi üzerindeki etkilerine dair sistematik çalışmalar ve kanıtlar halen sınırlıdır. Mevcut eksiklik, kurkuminin erkek üreme sistemindeki koruyucu mekanizmalarını ve optimal dozaj aralığını belirlemeyi gerekli kılmaktadır.

Bu çalışmada, Sprague Dawley ratları kullanılarak 28 gün süreyle 100, 500 ve 1500 mg/kg/vücut ağırlığı dozlarında oral olarak uygulanan kurkuminin, AQP3 ve AQP7 protein ekspresyon düzeyleri ile bu proteinlerin testis dokusu ve sperm parametreleri üzerindeki etkilerini değerlendirmek amaçlanmıştır. Bu cümle biraz daha sadeleştirilebilir: "Bu kapsamda, AQP3 ve AQP7'nin spermatozoaların su ve gliserol geçirgenliğindeki rolleri ile membran bütünlüğüne olan katkılarına odaklanılmış ve kurkuminin bu süreçler üzerindeki etkisinin incelenmesi hedeflenmiştir.

Bu kapsamlı değerlendirme, kurkuminin üreme toksikolojisindeki doz-yanıt ilişkisini anlamamıza ve potansiyel terapötik doz aralığının belirlenmesine önemli katkı sağlamayı hedeflemektedir.

2. GENEL BİLGİLER

Erkek fertilitesi büyük ölçüde sperm kalitesine dayanmaktadır. Sperm kalitesi; sayı, motilite, morfoloji ve DNA bütünlüğü gibi temel parametrelerle tanımlanır ve hem spontan gebelik olasılıkları hem de yardımcı üreme tekniklerinin başarısı üzerinde doğrudan belirleyici rol oynar. Bu parametreler arasında genetik yatkınlıklar, hormonal mekanizmalar, yaşam tarzı tercihleri ve çevresel maruziyetler bulunmaktadır (Ayad ve ark., 2022). Bu çalışmanın odağında, sperm kalitesi üzerinde potansiyel koruyucu etkileri bulunan kurkumin adlı doğal bileşik yer almaktadır. Zerdeçalın (*Curcuma longa*) ana biyoaktif bileşeni olan kurkumin, çok yönlü farmakolojik aktiviteleriyle tanınan ve kapsamlı olarak araştırılmış doğal bir polifenoldür. Çok sayıda in vitro, in vivo ve klinik çalışmada güçlü antioksidan, anti-inflamatuar, antikanser ve antidiyabetik özellikler sergilemiştir (Hong ve ark., 2025). Kurkuminin çeşitli hücresel sinyal yollarını düzenleme, oksidatif stres ve inflamasyonu azaltma yeteneği, onun spermatozoa canlılığı ve sağlığı üzerinde de etkili olabileceğini düşündürmektedir.

Aquaporinler (AQP'ler), yaklaşık 28 kDa büyüklüğünde olan ve integral membran proteinlerinden oluşan geniş bir ailedir. Bu proteinler, ozmotik ya da hidrostatik basınç gradyanlarına yanıt olarak suyun yanı sıra gliserol ve üre gibi bazı küçük nötr çözücülerin hücre zarından hızlı ve seçici şekilde taşınmasını sağlar (Chen ve ark., 2022). Memelilerde, farklı hücresel ve doku ifadelerine ve özgül subhücrel lokalizasyonlara sahip 13 aquaporin bulunmaktadır. AQP0, AQP1, AQP2, AQP4, AQP5, AQP6 ve AQP8 su taşınmasında rol oynayan AQP'ler olarak sınıflandırılır. AQP3, AQP7, AQP9 ve AQP10 hem gliserol hem de su taşıyan akuagliseroporinlerdir. AQP11 ve AQP12, özgün lokalizasyonları nedeniyle diğer AQP'lerden ayrılmaktadır (Agre, 2006). Bu proteinler, üreme sistemi de dahil olmak üzere çeşitli dokularda hücrel hacim, hidrasyon ve ozmotik dengenin korunmasında temel rol oynar. Akuagliseroporin alt ailesinin üyeleri

olan AQP3 ve AQP7, memeli spermatozoasında ifade edilmekte ve ozmoregülasyon, motilitenin aktivasyonu, kapasitasyon ve potansiyel olarak enerji metabolizması için gliserol taşınması gibi önemli fizyolojik süreçlerde rol oynamaktadır (Pequeno ve ark., 2023).

2.1. Sıçanlarda Erkek Üreme Sistemi Anatomisi ve Fizyolojisi

Erkek üreme sistemi, iç ve dış genital yapılar olmak üzere iki ana grupta incelenmektedir. İç genital organlar arasında spermatozoonların üretiminden sorumlu testisler, bu hücrelerin depolandığı ve olgunlaştığı epididimis, spermatozoonların taşındığı duktus deferens ile veziküler bez, prostat bezi ve bulbouretral bezler gibi yardımcı bezler bulunmaktadır. Dış genital organlar ise penisi ve onu örten prepitium yapısını kapsamaktadır (Erbas ve ark., 2024). Sıçanlarda birincil erkek üreme organları, iki ayrı skrotal kesede bulunan testislerdir. Erkek ratlar 40-60 günlükken pubertaya ulaşırlar. Testislerin büyüklüğü, türlerin yaşı ve çiftleşme alışkanlıklarına göre farklılık gösterebilir. Sıçanlar, çok eşli üreme davranışları nedeniyle görece daha büyük testislere sahiptir. Sıçanlarda, testislerin yaşam boyu karın boşluğuna geri çekilebilmesine olanak tanıyan açık bir inguinal kanal bulunması dikkat çekici bir anatomik özelliktir. Bu yapı, testislerin sıcaklık dengesinin (termoregülasyon) korunmasına katkı sağlamaktadır (Wilkinson ve ark., 2000).

Testislerin yapısı, seminifer tübüller ve interstisyel doku olmak üzere iki ana bölümlerle karakterizedir. Seminifer tübüller içinde, Sertoli hücreleri seminifer epitel bazal ve lüminal bölmelere ayırarak sıkı bir kan-testis bariyeri oluşturmaktadır (Diao ve ark., 2022). Testisler, çok sayıda seminifer tübülün epitel astarında meydana gelen spermatogenezin merkezidir. Testisler aynı zamanda, testosteron başta olmak üzere östron ve progesteron gibi önemli steroidal hormonları salgılayan bir endokrin bezi olarak da işlev görür (Ramm ve ark., 2005). Seminifer tübüller arasındaki interstisyel boşluklar,

gevşek bağ dokusu ve testosteronun birincil üreticileri olan Leydig hücrelerini içerir (Hasanin ve ark., 2018).

Her bir testisi kısmen örten epididimis, spermatozoa olgunlaşması ve depolanmasında hayati bir rol oynayan oldukça kıvrımlı bir kanaldır. Epididimis anatomik olarak üç farklı bölgeye ayrılmıştır: caput epididymis (üst kutupta bulunur), corpus epididymis (bir taraf boyunca uzanır) ve cauda epididymis (alt kısım). Caput epididymis yağ ile çevrilidir ve duktus deferense bağlanır. Testislerde üretilen sperm, hareketlilik ve dölleme kapasitesi kazandıkları ve daha sonra ejakülasyona kadar cauda epididimiste depolandıkları olgunlaşma için epididimise taşınır (Ramm ve ark., 2005). Epididymis tek tip bir yapı değildir, bağ dokusu septaları ile segmentlere ayrılmıştır ve her segment benzersiz ve örtüşen gen ekspresyon modelleri sergiler, bu da karmaşık fonksiyonel organizasyonunu vurgular (Abdollahi ve ark., 2023).

Vas deferens, inguinal kanal içinde bulunan ve cauda epididymisten üretraya uzanan uzun, tübüler yapılardır (Ramm ve ark., 2005). Birincil işlevleri, olgun spermatozoaları epididimisten ejakülasyon sırasında üretra yoluyla penise taşımaktır.

Erkek sıçanlarda üreme sistemi, seminal sıvının hem miktarına hem de kimyasal içeriğine katkıda bulunan beş çift yardımcı bez içerir. Bunlar veziküler bezler, koagüle edici bezler, Cowper (bulbouretral) bezleri, preputial bezler ve prostat bezidir. Üriner mesanenin arkasında konumlanan veziküler bezler ve onlara bitişik koagüle edici bezler, fruktoz ile birlikte sperm hareketliliği ve canlılığını destekleyen salgılar üretir. Ayrıca bu salgılar, kemirgenlerde çiftleşme sonrasında oluşan kopulatuvar tıkaçın meydana gelmesinde de rol oynar. Cowper bezleri, üretraya bıraktıkları pre-ejakülatuar sıvıyla hem asidik ortamı tamponlar hem de üretra ve vajinanın kayganlığını artırır. Preputial bezler ise glans penisi nemlendiren, lipit yönünden zengin smegma salgılar. Prostat bezi,

mesanenin arkasında yer alır ve spermin taşınmasını kolaylaştıran, ejakülatın büyük kısmını oluşturan sıvıları salgılar (Ramm ve ark., 2005).

Reprodüktif sisteminin birincil fizyolojik işlevleri; işlevsel spermatozoa üretimini sağlayan spermatogenez sürecini yürütmek, üretilen spermlerin testislerden ve genitoüriner kanaldan etkin biçimde taşınmasını temin etmek, kopulasyon sırasında spermatozoaların eşin genital kanalına yeterli ve uygun şekilde yerleştirilmesini sağlamak; ayrıca üreme süreçlerini koordine eden ve erkek fenotipinin sürdürülmesinde rol oynayan başlıca salgıların ve hormonların (ör. androjenler, gonadotropin regülatörleri) sentezi ile salgılanmasından sorumludur. Bu işlevler hem morfolojik ve hücresel düzeyde (germ hücre gelişimi, epididimal olgunlaşma, ejakülatuvar transport) hem de endokrin regülasyon eksenleri (hipotalamus–hipofiz–gonad aksı) aracılığıyla entegre bir şekilde gerçekleştirilmektedir (Ramm ve ark., 2005).

Sıçanlarda, diğer memelilerde olduğu gibi, erkek üreme sisteminin hormonal düzenlenmesi öncelikle hipotalamik-hipofiz-gonadal (HPG) eksenini tarafından yönetilir. Hipotalamus, ön hipofiz bezini uyarmak için gonadotropin salgılatıcı hormonu (GnRH) pulsatil bir şekilde salgılanmasını sağlar. Ön hipofiz, iki temel gonadotropin olan folikül uyarıcı hormon (FSH) ve lüteinleştirici hormonu (LH) sentezler ve salgılatır. LH öncelikle testislerdeki Leydig hücrelerini hedef alır ve onları erkek ikincil cinsel özelliklerinin, libidoyu ve spermatogenezin düzenlenmesini sağlayan birincil erkek seks hormonu olan testosteron üretmeye ve salgılamayı stimüle eder. FSH, öncelikle seminifer tübüller içindeki Sertoli hücreleri üzerinde etki göstererek spermatogenezin başlatılması ve desteklenmesinde kritik bir rol oynar. Testosteron, hipotalamus ve hipofiz üzerine negatif geri bildirim sağlayarak hormonal homeostazı korurken, aynı zamanda spermatogenez ve erkek ikincil cinsiyet karakterlerinin gelişimi için de gereklidir (Gurung ve ark., 2025; Hall, 2021).

Sperm üretimi olan spermatogenez, testislerin seminifer tübüllerinde meydana gelir (Ramm ve ark., 2005). Bu, spermatogonyal kök hücrelerin oldukça özel spermatozoonlara farklılaşmasını içeren sürekli ve hassas bir şekilde düzenlenmiş bir süreçtir. Bu karmaşık süreç temel olarak üç ana aşamaya ayrılabilir: spermatogonyumların mitotik bölünmeleri, spermatositlerin mayoz bölünmeleri ve spermatidlerin olgun spermatozoonlara dönüştüğü morfolojik farklılaşma süreci olan spermiyogenez (Gurung ve ark., 2025; Suede ve ark., 2025).

Seminifer tübüllerde yer alan Sertoli hücreleri, spermatogenezin her aşamasında vazgeçilmez bir destek sağlar. Morfolojik olarak dinamik ve fonksiyonel açıdan çok yönlü olan bu somatik hücreler, germ hücrelere mekanik destek ve metabolik besleme sunar, artık cisimciklerin fagositozunu gerçekleştirir ve kan-testis bariyerini oluşturarak immünolojik izolasyonu sağlar. Ayrıca parakrin ve endokrin sinyaller aracılığıyla olgunlaşma süreçlerini koordine ederler. FSH ve intratestiküler testosteron gibi hormonal girdilere duyarlı olmaları, Sertoli hücrelerinin spermatogenetik mikroçevrenin sürdürülebilirliğini ve testiküler homeostazı korumasında merkezi bir rol üstlenmesini sağlar. Bu işlevsel çeşitlilik, Sertoli hücrelerini erkek gonadının en karmaşık ve düzenleyici hücre tiplerinden biri yapar (O'Donnell ve ark., 2022). Sertoli hücreleri, olgunlaşmanın çeşitli aşamalarındaki gelişen germ hücrelerine temel besin maddeleri, büyüme faktörleri ve yapısal destek sağlar. Yetişkin Sertoli hücresi, sıçanlarda seminifer tübülün bazal membranıyla temas eden düzleştirilmiş bir yüzeye ve çok sayıda yanal ve apikal uzantıya sahip geniş bir sitoplazmaya sahip büyük bir hücredir (O'Donnell ve ark., 2022). Mayoz ve post-miyotik gelişimin hassas süreçleri için gerekli benzersiz bir mikro ortam yaratan, sistemik dolaşımdan gelişen germ hücrelerini ayıran özel bir geçirgenlik bariyeri olan kan-testis bariyerinin oluşumu ve bakımı için çok önemli bir rol oynarlar (Mruk & Cheng, 2015).

Sıçanlarda, bir spermatogonyumun farklılaşmasından olgun bir spermatozoonun salınmasına kadar olan bir tam spermatogenez döngüsü yaklaşık 13 gün sürer. Bununla birlikte, spermatogenezin herhangi bir zamanda tüm seminifer tübüllerinde tutarlı bir şekilde senkronize olmadığını ve sürekli bir olgun sperm kaynağı sağladığını belirtmek önemlidir (Gurung ve ark., 2025; Staub & Johnson, 2018).

2.2. Spermatogenez Süreci: Moleküler ve Hücresel Mekanizmalar

Spermatogenez, spermatogonyumların yenilenmesi ve farklılaşmasını, spermatositlerin olgunlaşmasını ve bölünmesini ve sperm hücrelerinin dönüşümünü içeren oldukça organize ve ardışık bir süreçtir (Zhao ve ark., 2018). Spermatogenez başlatan diploid germ hücreleri olan spermatogonyumlar, seminifer tübüllerin bazal kompartmanında, bazal membrana yakın konumdadır. Bu hücreler, hem popülasyonlarını genişletmek hem de sonunda mayozla girecek olan farklılaşan spermatogonyumlara yol açmak için bir dizi mitotik bölünme geçirirler (Gurung ve ark., 2025). Sürekli spermatogenez, erkeğin yaşamı boyunca spermatogonial kök hücrelerin (SSC'ler) uygun şekilde kendini yenilemesine ve farklılaşmasına bağlıdır (Diao ve ark., 2022). Spermatogenezin kök hücresi, seminifer tübüllerin bazal bölümünde bulunan spermatogonyumdur (Aniebo Umoh, 2024). Spermatogonyum çoğalması, spermatogonyal kök hücre (SSC) havuzunun korunması açısından kritiktir. SSC'ler, üreme ömrü boyunca sürekli bir germ hücresi kaynağı sağlayan ve spermatogenik yola girecek olan progenitör hücrelere farklılaşan kendi kendini yenileme kapasitesine sahip benzersiz bir spermatogonyum alt kümesidir. SSC'lerin kendi kendini yenileme ve farklılaşma arasındaki denge, Sertoli hücrelerini ve çevredeki hücre dışı matrisi içeren nişlerinden gelen karmaşık bir içsel genetik program ve dışsal sinyallerin etkileşimi ile sıkı bir şekilde düzenlenir. SSC'lerin kendini yenilemesi için gerekli olan faktörlerden biri GDNF'dir. Doğumdan sonra Sertoli hücreleri tarafından salgılanan bir proteindir ve

özellikle in vivo ve in vitro SSC'lerin bakımı ve çoğalmasından sorumludur (Kostereva & Hofmann, 2008). SSC'lerden farklılaşan spermatogonyumlara ve bunların sonraki mitotik çoğalmalarına geçiş, çeşitli genler, sinyal yolları ve büyüme faktörlerinin karmaşık bir etkileşimi tarafından yönetilir. Örneğin, A vitamini metaboliti olan retinoik asit (RA), spermatogonyumların farklılaşmasını ve mayoz girişini başlatmada kritik bir rol oynar. Bu geçişleri kontrol eden kesin moleküler mekanizmalar, karmaşık transkripsiyonel düzenlemeyi ve hücre döngüsü kontrolünü içerir (La & Hobbs, 2019; Wright, 2022).

Spermatogonyumların mitotik çoğalmasını takiben, ortaya çıkan germ hücreleri, şimdi birincil spermatositler olarak adlandırılır, kromozom sayısını yarıya indiren, diploitten haploide düşüren özel bir hücre bölünmesi türü olan mayoz girerler. Mayoz iki ardışık bölünmeden oluşur: mayoz I ve mayoz II. Mayoz I sırasında, homolog kromozomlar eşleşir ve genetik çeşitliliği artıran rekombinasyon adı verilen bir süreçle genetik materyali değiştirirler. Daha sonra, homolog kromozomlar ayrılır ve iki haploid ikincil spermatosit oluşur. İkincil spermatositler daha sonra, mitotik bir bölünmeye benzeyen mayoz II'ye ilerlerler ve kardeş kromatitler ayrılır ve haploid spermatidler oluşur (Gurung ve ark., 2025). Mayozun ilerlemesi, kromozom eşleşmesi ve ayrışmasının hassas süreçleri için gerekli benzersiz bir adluminal ortam yaratan kan-testis bariyerinin kurulmasına ve sürdürülmesine kritik bir şekilde bağlıdır (Saulnier ve ark., 2022). Prolaktin gibi hormonal faktörlerin de mayozun ilerlemesini etkilediği gösterilmiştir (Raut ve ark., 2025).

Spermiyogenez, spermatidlerin olgun spermatozoaya dönüşmesini içerir (Aniebo Umoh, 2024). Spermiyogenez, yuvarlak, haploid spermatidlerin olgun, hareketli spermatozoonlara dönüştüğü spermatogenezin son aşamasıdır. Bu süreç daha fazla hücre bölünmesini içermez, bunun yerine hücresel yapıların dramatik bir şekilde yeniden

modellenmesini içerir. Spermiyogenez sırasında meydana gelen temel olaylar arasında çekirdeğin yoğunlaşması ve uzaması, dölleme için gerekli enzimleri içeren başlık benzeri bir yapı olan akrozomun oluşumu ve sperme hareketlilik sağlayan flagellumun gelişimi yer alır (Gurung ve ark., 2025). Spermatidin sitoplazması kademeli olarak azalır ve sonunda artık cisimciği olarak atılır. Özelleşmiş bir mikrotübül yapısı olan manşet, bu faz sırasında spermatozoon başının şekillenmesinde önemli bir rol oynar (O'Donnell, 2014). Spermatogenezin son adımı, tam olarak olgunlaşmış spermatozoaların Sertoli hücrelerinden seminifer tübüllerin lümenine salınmasıdır; buradan epididimise daha fazla olgunlaşma ve depolama için taşınırlar (La & Hobbs, 2019). Son olarak, sitoplazmanın fazlası testislerdeki çevreleyen Sertoli hücreleri tarafından fagosite edilir (Aniebo Umoh, 2024).

2.3. Spermatozoonun Yapısı

Spermatozoon, mayoz bölünme sonucunda oluşmuş haploid bir hücre olup, başında yoğun paketlenmiş DNA (nükleus) ve Golgi kökenli akrozom örtüsü bulundurur (Teves & Roldan, 2022). Spermatozoonun birincil görevi oosite DNA'sını taşımaktır; bu nedenle kromatin yapısı diğer hücrelerden farklıdır: protamin adı verilen özel proteinlerle paketlenerek son derece kompakt hale gelir. Bu sıkı paketlenme DNA bütünlüğünü korur ve transkripsiyon aktivitesini kapatır. Spermatozoonun tüm bölümleri tek bir plazma zarıyla çevrilidir; baş ve kuyruk birbirine bağlantılı tek bir zarın farklı bölgeleridir. Spermatozoon kuyruğu flagellum biçimindedir ve ortasındaki 9+2 aksonem mikrotübül demeti ile desteklenir. Aksonemi çevreleyen ve kuyruk hareketi için destek sağlayan dokuz adet dış dens bulunur (Ayad ve ark., 2022; Steger & Balhorn, 2018). Ortalama memeli spermatozoa uzunluğu 30–350 µm arasında değişebilir ve bu yapısal çeşitlilik türler arasında büyük farklılıklar gösterir (Zhao ve ark., 2018).

2.3.1 Baş Bölgesi

Sıçan spermatozoonunun başı, DNA'yı taşıyan yüksek derecede kondanse kromatinli bir çekirdek ile üzerinde hidrolitik enzimler içeren bir akrozom içerir. Çekirdek ve akrozom, spermatozoa başı hacminin büyük kısmını kaplar; arta kalan boşluk ise perinükleer kılıf (perinuclear theca) ile doldurulur. Spermatozoa başındaki ana sitoskeletal bileşen, başlangıçta düşünüldüğü gibi geleneksel sitoskeletal proteinlerden değil, çeşitli sitosolik ve nükleer proteinlerden oluşan perinükleer teka (PT)'dir. Bu kılıf, akrozomaltı katman (subakrosomal tabaka, SAL) ve post-akrosomal kılıf (PAS) olmak üzere en az iki bölgeden oluşur. Fare ve sıçan gibi hilal (falciform) başlı rodentlerde bu iki yapıya üçüncü bir bileşen olan perforatorium da eklenir. Akrozom, çekirdeğin dorsal (üst) ve lateral (yan) kenarlarında ince kubbe biçiminde yerleşirken, ventral (alt) tarafta akrozomal materyalin hiç olmadığı bir bölge bulunur; burada yalnızca 'yer değiştirmiş başkapak segmenti' adı verilen küçük bir akrozomal parça kalır (Oko & Sutovsky, 2009; Protopapas ve ark., 2019). Bu yapı, akrozomun dorsal ve yan kısımlarda bir üçgen şerit (kabartı) oluşturduğu özel bir mimariyle sağlanır; ventral taraftaki kesilme ise nükleusun apikalinden öne uzanan perforatorium adlı üçgenik bir çıkıntının oluşmasını mümkün kılar. Yer değiştirmiş başkapak segmenti, spermiyogenez sırasında akrozomun bölünmesi sonucu ortaya çıkar. Sıçan spermatozoon başındaki bu özgün yapıların her biri fertilizasyon sürecinde, örneğin yumurtanın aktivasyonu gibi, önemli işlevlere katkı sağlayan özgün protein içerikleri barındırır (Protopapas ve ark., 2019).

2.3.2 Boyun (Bağlayıcı Parça) Bölümü

Spermatozoonun boynu, baş ve kuyruk arasındaki eklemlenme noktasıdır ve spermatozoa sentriyolünü ve bağlantı parçasını içerir. Bu bölgede, çekirdeğin bazal plakasıyla birleşik iki sentriyol bulunur. Proksimal sentriyol (nükleusa yakın) implantasyon fossasına gömülmüş durumdayken, distal sentriyol aksonemanın temelini

oluşturarak kuyruğun oluşumunu başlatır. Boyun bölgesindeki yoğun sitoplazmik yapı ve mikrofilamentler, spermatozoa başının kuyruğa mekanik olarak sağlam biçimde bağlanmasını sağlar. Bağlayıcı parçanın bozuklukları, spermatozoa başı-kuyruk bağlantısının zayıflayarak hareket kabiliyetinin ve fertilizasyon yeteneğinin azalmasına yol açabilir (Chemes & Alvarez Sedo, 2012; Guseva ve ark., 2024).

2.3.3 Kamçı (Flagellum) Bölümü

Memeli spermatozoon kamçısı, sperm hareketliliği ve dolayısıyla dölleme için kritik öneme sahip karmaşık bir yapıdır. Kamçı morfolojik olarak üç farklı bölge ile karakterize edilir: orta parça, ana parça ve uç parça (Cao ve ark., 2006). Spermatozoa kamçısının orta bölümünü mitokondriyel kılıf oluşturur. Bu kısımda, aksonem ve dış yoğun lifler (ODF) çevresinde düzenlenmiş çok sayıda mitokondri sarmal yapıda yer alır. Mitokondriler, dış yoğun lifler ve aksonem etrafında heliks biçiminde paketlenerek helikal mitokondriyal kılıf meydana getirir. Spermiyogenez sonrasında midpiece ile ana parça arasında halkasal bir 'anulus' yapısı oluşur; bu, mitokondrilerin orta parçaya yerleşimini sonlandırır. Olgun spermatozoonda mitokondriler, dış dens fibrillere bağlanarak ATP sentezi yoluyla hareketliliğe enerji sağlar. Dış yoğun lifler, aksonemin mekanik dayanıklılığını artırarak kuyruk titreşimini destekler (Zhang ve ark., 2004).

Kamçı ana parçası (principal piece) da dış yoğun lifler içerir ancak burada fibröz kılıf (FS) mevcuttur. Fibröz kılıf, yalnızca ana parçada bulunur ve hücre zarı ile ODF arasında konumlanmıştır. Bu kılıfın yapısını çevresel kaburgalar (semisirküler ribs) ve mikrotübüllerin 3. ve 8. çiftlerine ODF üzerinden bağlanan longitudinal kolonlar oluşturur. Fibröz kılıf, spermatozoa kuyruğunun bükülme düzlemlerini sınırlar ve glikoliz enzimleri ile diğer aktif proteinlerin yerleşimi için iskelet görevi görür. Tüm bu kuyruk yapıları, sperm hareketliliği, sinyal iletimi ve enerji metabolizması için gerekli yapısal ve

işlevsel desteği sağlar. En uç kısım olan uç parça ise yalnızca aksonemi içerir; burada fibröz kılıf ve dış yoğun lifler sonlanır (Guseva ve ark., 2024; Yogo, 2022).

2.4. Erkek Üremesinde Gonadotropinler ve Steroid Hormonlar

2.4.1. Gonadotropin Salgılatıcı Hormon (GnRH)

GnRH, luteinleştirici hormon (LH) ve folikül uyarıcı hormon (FSH), erkek üreme fizyolojisinin temel düzenleyici hormonlarıdır. Ayrıca koryonik gonadotropin (hCG), fizyolojik olarak erkeklerde salgılanmamakla birlikte, klinik uygulamalarda LH benzeri etkisi nedeniyle testiküler fonksiyonların uyarılmasında kullanılmaktadır (Ulloa-Aguirre ve ark., 2017). Hipotalamus tarafından pulsatil bir şekilde sentezlenir ve salgılanır. Bu pulsatil salınım, ön hipofiz bezini uygun şekilde uyarması için kritik öneme sahiptir. Ön hipofize ulaştığında, GnRH gonadotrop hücrelerindeki reseptörlerine bağlanarak iki temel gonadotropin olan folikül uyarıcı hormon (FSH) ve luteinleştirici hormonu (LH) sentezini ve salgılanmasını tetikler (Gurung ve ark., 2025). GnRH pulslarının frekansı ve genliği, salgılanan FSH ve LH oranını etkiler. GnRH'nin erkek üremesindeki kritik rolü, sıçanlarda GnRH analoglarının immünokastrasyon için kullanılmasını gösteren çalışmalarla daha da kanıtlanmaktadır; bu, anti-GnRH antikörlerinde önemli bir artışa, serum testosteron konsantrasyonlarında azalmaya ve bunun sonucunda spermatogenezin bozulduğu testis atrofisine yol açar (Zhang ve ark., 2024). Bu durum, gonadal fonksiyonun GnRH sinyaline bağımlılığına işaret eder. GnRH salınımı, özellikle stresli koşullar altında hipotalamik gonadotropin-inhibe edici hormon (GnIH) gibi diğer hipotalamik hormonlar tarafından modüle edilebilir ve bu da hipotalamik-hipofiz-testiküler eksenini baskılar (Odetayo ve ark., 2023).

2.4.2. Folikül Uyarıcı Hormon (FSH)

FSH, GnRH uyarımına yanıt olarak ön hipofizden salınan bir glikoprotein hormonudur (Gurung ve ark., 2025). FSH, hedef hücrelerdeki spesifik reseptörüne

(FSHR) bağlanarak işlev gösterir. Hormonun beta alt birimi, bu bağlanmanın özgülüğünden sorumludur (Wang ve ark., 2022). Kan dolaşımı yoluyla testislere ulaşan FSH, temel etkilerini seminifer tübüllerde yer alan somatik destek hücreleri, yani Sertoli hücreleri üzerinde gösterir. Sertoli hücrelerinin yüzeyinde bulunan özgül FSH reseptörlerine (FSHR) bağlanarak etkisini ortaya koyar. Bu bağlanma, Sertoli hücrelerinin işlevi açısından kritik öneme sahip olan hücre içi sinyal yollarını harekete geçirir. FSH, özellikle fetal ve neonatal dönemde Sertoli hücrelerinin çoğalmasını uyarırken, ilerleyen süreçte onların olgunlaşmasını destekler. Ayrıca spermatogenez boyunca germ hücrelerinin gelişim ve olgunlaşması için gerekli olan pek çok büyüme faktörü, besin maddesi ve sinyal molekülünün üretimini teşvik ederek önemli bir rol oynar (Li ve ark., 2024). Kemirgenlerde spermatogenez FSH yokluğunda ilerleyebilse de, eksikliği sperm miktarını önemli ölçüde azaltır ve sperm üretiminin niceliksel yönleri için önemini vurgular (Oduwole ve ark., 2018).

2.4.3. Luteinizan Hormon (LH)

LH, GnRH'ye yanıt olarak ön hipofiz tarafından salgılanan başka bir glikoprotein hormonudur. Reprodüktif sistemdeki birincil hedefi, seminifer tübüller arasındaki interstisyel boşluklarda bulunan Leydig hücreleridir. LH, Leydig hücreleri üzerinde bulunan transmembran reseptörlere (LHR) bağlanarak testosteron sentezi sürecini başlatır. LH, özellikle steroidojenik yollarda rol oynayan enzimleri kodlayan genlerin transkripsiyonunu destekler. Ayrıca LH, Leydig hücrelerinin spermatogonyum çoğalması için gerekli büyüme faktörleri üretmesini de sağlar (Lei ve ark., 2025). Testis içi testosteron (ITT), Sertoli hücrelerinde bulunan hücre içi androjen reseptörlerine bağlanarak germ hücresi gelişimi için gerekli parakrin uyarıcıların salgılanmasını uyarır. Bu bağlanma, kolesterolden testosteron sentezini ve salgılanmasını başlatan hücre içi sinyal yollarını uyarır. LH'nin etkisiyle Leydig hücreleri tarafından üretilen testosteron,

spermatogenezin özellikle spermatogenezin geç evrelerinin başlatılması ve devam ettirilmesi için kritik öneme sahiptir. LH, Leydig hücrelerinin kendi gelişimleri ve fonksiyonlarını sağlıklı şekilde sürdürebilmeleri açısından da gereklidir (Esteves & Humaidan, 2025).

2.4.4. Testosteron

Testosteron, LH uyarımı altında testislerdeki Leydig hücreleri tarafından üretilen birincil androjen veya erkek seks hormonudur. Androjenlerden biri olan testosteron, spermatogenez için gereklidir ve serumdakinden daha fazla miktarda testiste bulunur. Testosteron, spermatositlerin mayozunu düzenlemede önemli bir role sahiptir. Erkek ikincil cinsel özelliklerinin, libidonun gelişimi ve sürdürülmesi için gereklidir ve spermatogenezin düzenlenmesinde kritik bir rol oynar. Testosteron, mayoz ötesi spermatogenezin ilerlemesi, spermiyasyon (olgun spermatidlerin salınımı) ve kan-testis bariyerinin bütünlüğünün korunması için gereklidir (Li ve ark., 2024). Sertoli hücreleri de dahil olmak üzere hedef dokularda, hücre içi androjen reseptörlerine (AR) bağlanarak etki gösterir. Bu bağlanma, gen transkripsiyonunda değişiklikleri içeren klasik genomik yolların ve hücresel süreçleri daha hızlı etkileyebilen genomik olmayan yolların aktivasyonuna yol açar. Sertoli hücrelerinde testosteron, onların çoğalmasını, farklılaşmasını ve germ hücresi gelişimini desteklemek için gerekli çok sayıda genin ekspresyonunu düzenler (Li ve ark., 2024). Testosteron ayrıca periferik dokularda daha güçlü bir androjen olan dihidrotestosterona (DHT) ve bir östrojen olan östradiole dönüştürülebilir ve her ikisi de erkek üreme fizyolojisinde spesifik rollere sahiptir (Lei ve ark., 2025).

2.5. Kurkumin: Kimyasal Yapı ve Biyolojik Aktiviteler

İlk olarak, zerdeçaldan "sarı renklendirici özelliklere" sahip bir maddeyi tespit eden ve buna kurkumin adını veren Vogel ve Pelletier tarafından izole edilmiştir

(Aggarwal & Sung, 2009; Yan ve ark., 2025). Kurkuminin birincil doğal kaynağı, yaygın olarak zerdeçal olarak bilinen *Curcuma longa* bitkisinin rizomudur. Zerdeçal, yüzyıllardır geleneksel tıpta ve özellikle Asya ülkelerinde baharat ve gıda boyası olarak kullanılmaktadır (Hong ve ark., 2025).

Kurkumin, zerdeçalın en bol bulunan ve biyolojik olarak en aktif kurkuminoididir. Yapısal olarak, iki aromatik halkayı birbirine bağlayan doymamış bir karbon zinciri omurgasına sahip bir polifenoldür. Kimyasal adı 1,7-bis(4-hidroksi-3-metoksifenil)-hepta-1,6-dien-3,5-dion olup, moleküler ağırlığı yaklaşık 368.39 g/mol' dür (Cozmin ve ark., 2024; Hong ve ark., 2025; Rapti ve ark., 2024).

Kurkuminin temel yapısal özelliği, keto formu ve enol formu arasında tautomerizasyona izin veren merkezi bir β -diketon kısmının varlığıdır. Bu formlar arasındaki denge, çevredeki ortamdaki etkilenir; keto formu genellikle polar ve asidik ortamlarda daha kararlıyken, enol formu katı halde ve alkali çözeltilerde baskındır. Bu tautomerizm, kurkuminin kimyasal reaktivitesinde ve biyolojik aktivitesinde rol oynar (Sharifi-Rad ve ark., 2020).

Molekül, her biri para pozisyonunda bir hidroksil grubu ve orto pozisyonunda bir metoksi grubu ile ikame edilmiş iki fenil halkası da dahil olmak üzere, çeşitli önemli fonksiyonel gruplar içerir. Bu fenolik hidroksil grupları, serbest radikalleri nötralize etmek amacıyla kolaylıkla hidrojen atomu bağışlayabildiklerinden, kurkuminin antioksidan özellikleri açısından kritik öneme sahiptir. Ayrıca, heptadien birimlerinde yer alan karbon-karbon çift bağları, kurkuminin karakteristik sarı-turuncu rengini oluşturan konjuge sisteme katkıda bulunur ve elektron delokalizasyonunu kolaylaştırarak antioksidan aktivitesine katkı sağlar (Sharifi-Rad ve ark., 2020).

Kurkuminin yanı sıra, zerdeçal rizomları, demetoksikurkumin ve bisdemetoksikurkumin gibi yapısal olarak benzer diğer bileşikler de içerir. Bu bileşikler

genel olarak kurkuminoidler olarak adlandırılır. Her ne kadar bu bileşikler de belirli düzeyde biyolojik aktivite gösterse de kurkumin genellikle en etkin ve en yüksek oranda bulunan formdur; zerdeçal özlerinde toplam kurkuminoid içeriğinin yaklaşık %77'sini oluşturur (Cozmin ve ark., 2024).

Kurkumin, süperoksit anyonları, hidroksil radikalleri, hidrojen peroksit, singlet oksijen ve nitrik oksit gibi çeşitli reaktif oksijen türlerini (ROS) etkili bir şekilde temizleyebilen güçlü bir antioksidandır. Bu özelliği sayesinde hücreleri oksidatif hasara karşı korur. Kurkuminin antioksidan kapasitesi, başlıca fenolik hidroksil gruplarının serbest radikallere hidrojen atomu aktarabilme yeteneği ve doğrudan radikal tutulumu ile açıklanır; ayrıca reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumunda rol oynayan geçiş metallerini şelatlama kabiliyeti de bu etkinin önemli bir bileşenidir (Kaur ve ark., 2024). Bunun ötesinde kurkumin, hücrel antioksidan yanıtların ana düzenleyicisi olan Nrf2 (nükleer faktör eritroid 2 ile ilişkili faktör 2) sinyal yolunu modüle ederek endojen savunma mekanizmalarını dolaylı biçimde güçlendirir; böylece hem enzimatik hem de non-enzimatik antioksidan bantları desteklenir (Gonzalez-Reyes ve ark., 2013; Kumar ve ark., 2017). Randomize klinik çalışmaların meta-analizleri, kurkumin takviyesinin vücuttaki toplam antioksidan kapasitesini (TAK) önemli ölçüde artırabileceğini ve ayrıca bir lipit peroksidasyon markeri olan malondialdehit (MDA) seviyelerinde azalmaya yol açabileceğini göstermiştir (Jakubczyk ve ark., 2020).

Kurkumin, inflamatuvar yanıtta yer alan çoklu sinyal yollarını modüle ederek önemli anti-inflamatuvar aktivite sergiler (Shimizu ve ark., 2019). Temel bir mekanizma, pro-inflamatuvar sitokinlerin ve enzimlerin ekspresyonunda merkezi bir rol oynayan bir transkripsiyon faktörü olan nükleer faktör kappa-B'nin (NF-κB) inhibisyonunu içerir (Rapti ve ark., 2024). Kurkumin ayrıca, inflamasyonda önemli bir yol olan Toll benzeri reseptör 4 (TLR4) sinyaline müdahale edebilir ve anti-inflamatuvar etkilere sahip olan

peroksizom proliferatör ile aktive edilen reseptör gama (PPAR γ)'yı aktive ettiği gösterilmiştir (Mazidi ve ark., 2016; Shimizu ve ark., 2019). Bu yolları hedef alarak, kurkumin, tümör nekroz faktörü-alfa (TNF- α), interlökin-6 (IL-6) ve interlökin-1 beta (IL-1 β) gibi sitokinler ile indüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS) ve siklooksijenaz-2 (COX-2) gibi enzimler dahil olmak üzere çeşitli pro-inflamatuar mediatörlerin üretimini ve salınımını azaltabilir (Rapti ve ark., 2024). Kurkumin, makrofajlar ve T hücreleri dahil olmak üzere bağışıklık hücrelerinin aktivitesini modüle ederek anti-inflamatuar etkilerine katkıda bulunabilir. Kurkumin, *in vitro* ve *in vivo* çalışmalarda antikanser özellikler sergilemiş olup, çeşitli kanser türlerinde tümör hücrelerinin apoptozunu indükleme ve çoğalmasını ve invazyonunu inhibe etme yeteneği göstermiştir (Hong ve ark., 2025). Antikanser etkileri, hücre büyümesi, hayatta kalması ve metastazında yer alan çoklu hücre sel sinyal yollarının modülasyonu yoluyla gerçekleşir (Cozmin ve ark., 2024). Örneğin kurkumin, pro- ve anti-apoptotik proteinler arasındaki dengeyi değiştirerek hücre ölüm yollarının aktive olmasına neden olabilir. Kurkumin, tümör ilerlemesini destekleyen ve kanser hücrelerinde sıkça aktive olan NF- κ B ile STAT3 transkripsiyon faktörlerinin aktivitesini baskılayarak antiproliferatif ve proapoptotik etkilerini ortaya koyar; bu yolakların inhibisyonu, bileşiğin antitümör etkinliğinin moleküler temelini oluşturur. (Cozmin ve ark., 2024). Kurkumin, klasik kemoterapötiklere karşı kemosensitizatör potansiyeli taşımakta; bu nedenle bileşiğin biyoyararlanımını ve doku hedeflemesini iyileştirmeye yönelik nanopartikül temelli formülasyon stratejileri yoğun şekilde araştırılmaktadır (Amaroli ve ark., 2024). Mevcut veriler ayrıca kurkuminin insülin direncini iyileştirdiğini, lipit metabolizmasını düzenlediğini ve plazma glukoz ile insülin düzeylerinde düşüşlere yol açabildiğini göstermekte olup, bu etkilerin arkasında anti-inflamatuar ve antioksidan özelliklerinin de bulunduğu düşünölmektedir (Gu ve ark., 2024; Gunnink ve ark., 2016).

2.6. Aquaporinler ve Sperm Fizyolojisi

Aquaporinler (AQP'ler), hayvanlar, bitkiler ve mikroorganizmalar dahil olmak üzere çeşitli yaşam alanlarında bulunan küçük (tipik olarak yaklaşık 28 kDa), yüksek oranda korunmuş integral zar proteinlerinden oluşan geniş bir ailedir. Birincil işlevleri, su moleküllerinin hücre zarlarından hızlı ve seçici taşınmasını kolaylaştırmaktır, ancak bazı üyeler gliserol, üre ve hatta karbondioksit gibi küçük, yüklü olmayan diğer çözücülerin geçişine de izin verir (Chen ve ark., 2022). AQP'lerin ayrıca silikon, antimonit, arsenit ve bazı iyonları taşıdığı da düşünülmektedir; ancak, AQP'lerin taşıma özelliklerine ilişkin verilerin çoğu in vitro deneylerden elde edilmiştir. Çeşitli küçük moleküllere geçirgen olan AQP'lerin fizyolojik öneminin in vivo deneylerle belirlenmesi gerekmektedir (Geng ve ark., 2023).

Bir AQP'nin temel yapısal birimi, lipid çift tabakasını geçen altı transmembran α -helikal segmentten oluşan bir monomerdir ve beş döngü ile birbirine bağlanır. Bu monomerler tipik olarak hücre zarı içinde homotetramerler halinde birleşir ve her monomer bağımsız, su ileten bir gözenek oluşturur. Dar sulu gözenek, iki döngüde bulunan NPA (asparagin-prolin-alanin) dizisi dahil olmak üzere korunmuş motifler içerir ve bu da su molekülleri için seçicilikte ve iyonların dışlanmasıyla önemli bir rol oynar (Verkman, 2013).

Substrat geçirgenliklerine göre, memeli aquaporinleri genellikle iki ana gruba ayrılır. Birinci grup, yalnızca suya seçici klasik veya ortodoks aquaporinlerdir (örneğin AQP1, AQP2, AQP4, AQP5, AQP8). İkinci grup ise gliserol ve diğer küçük çözücülerini taşıyabilen akuagliseroporinlerdir (örneğin AQP3, AQP7, AQP9, AQP10) (Chen ve ark., 2022). Üçüncü bir grup olan süperaquaporinler (AQP11 ve AQP12) de bulunmaktadır. Bu proteinlerin hücre içi su taşınmasında ve organel fonksiyonlarının düzenlenmesinde görev aldıkları düşünülmektedir (Ribeiro ve ark., 2023). Hücre

zarlarından su geçirgenliği, AQP'lerin ayırt edici özelliği olarak öne çıkmakla birlikte, bu proteinler aynı zamanda diğer çözünen maddeler ve gazların taşınmasını kolaylaştırır. Bazı AQP'ler, gliserol, hidrojen peroksit (H₂O₂), üre, nitrik oksit (NO), amonyak (NH₃), nitrat (NO₃⁻), CO₂ ve O₂ gibi çeşitli küçük ve suda çözünmeyen moleküllerin taşınmasında oldukça çok yönlüdür. İlginç bir şekilde, üre, NH₃, NO₃⁻ ve NO'nun AQP aracılığıyla taşınması in vitro deneyler ve moleküler dinamik simülasyonlarla gösterilmiş olsa da bu taşınmanın fizyolojik rolü hâlen açıklığa kavuşmamıştır (Geyer ve ark., 2013; Ikeda ve ark., 2002; Li & Wang, 2014; Reichow ve ark., 2013). AQP'ler aracılığıyla diğer çözünen maddelerin taşınması metabolik ve düzenleyici işlevlere katkı sağlar. AQP'lerin bu çok yönlü geçirgenliği, karmaşık organizmalardaki özelleşmiş dokuların farklı ihtiyaçlarını karşılamak üzere evrimleşmiş olabilir. Farklı doku ve organlarda çeşitli fizyolojik roller üstlenen AQP'ler, epitel sıvı salgılanması, hücre göçü, cilt hidrasyonu ve adipositlerde metabolik düzenleme gibi süreçlere katkıda bulunur (Verkman, 2013).

2.6.1. AQP3 ve AQP7'nin Yapısı ve Lokalizasyonu

Aquaporin 3 (AQP3), insan (Alyasin ve ark., 2020; Laforenza ve ark., 2016), sığır (Fujii ve ark., 2018; Prieto-Martinez, Morato, ve ark., 2017), at, fare (Bonilla-Correal ve ark., 2017; Chen ve ark., 2011) ve domuz (Prieto-Martinez, Vilagran, ve ark., 2017) sperminde tanımlanmıştır.

Aquaporin 7 (AQP7), at, insan (Alyasin ve ark., 2020; Bonilla-Correal ve ark., 2017; Moretti ve ark., 2012; Saito ve ark., 2004; F. Suzuki-Toyota ve ark., 1999), domuz (Prieto-Martinez ve ark., 2016; Vicente-Carrillo ve ark., 2016), sığır (Fujii ve ark., 2018; Prieto-Martinez, Morato, ve ark., 2017), fare (Yeung ve ark., 2009) ve sıçan (Calamita, Mazzone, Bizzoca, ve ark., 2001; Ishibashi ve ark., 1997; F Suzuki-Toyota ve ark., 1999) sperminde tanımlanmıştır.

Aquaporin 3 (AQP3), çeşitli memeli türlerinin spermelerinde tanımlanmış bir akuagliseroporindir, ancak varlığı ve lokalizasyonu değişiklik gösterebilir. Fare ve insanlarda AQP3'ün öncelikle flagellumun ana parçasında (principal piece) lokalize olduğu bildirilmiştir (Chen ve ark., 2011). Bununla birlikte, koç, muflon, dromedary devesi ve yaban domuzu gibi diğer türlerde yapılan çalışmalar, akrozom (sperm başının başlık benzeri yapısı), orta kısım (mitokondri içeren bölge) ve kuyruğun uç kısmı dahil olmak üzere diğer bölgelerde de AQP3 ekspresyonu bildirmiştir. İlginç bir şekilde, boğa spermünde AQP3 öncelikle orta kısımda tespit edilmiştir (Pequeno ve ark., 2023). Spermdeki AQP3'ün lokalizasyonu, flagellar hareket ve potansiyel olarak dışı üreme yolu ortamıyla etkileşimlerle ilgili fonksiyonlarda rol oynayabileceğini düşündürmektedir. Araştırmalar ayrıca, AQP3'ün spermdeki lokalizasyonunun dinamik olabileceğini ve koyun ve keçi spermelerinde gözlemlendiği gibi kriyoprezervasyon sırasında soğutma hızları gibi faktörlerden etkilenebileceğine işaret etmektedir (Pequeno ve ark., 2024). Özellikle, bazı çalışmalar sıçan spermünde AQP3 ekspresyonunu tespit edememiştir (Chen & Duan, 2011).

Aquaporin 7 (AQP7), spermelerde tanımlanmış başka bir akuagliseroporindir. Boğa spermatozoalarında, immünohistokimya analizleri AQP7 için iki farklı lokalizasyon paterni ortaya koymuştur: biri spermatozoa başı ve tüm kuyrukta yaygın boyanma, diğeri ise baş ve kuyruğun orta kısmında daha belirgin boyanma göstermektedir. İnsan spermünde AQP7'nin baş, orta kısım ve kuyruk dahil olmak üzere çoklu kompartımanlarda bulunduğu görülmektedir (Ribeiro ve ark., 2023). Ayrıca, insan testislerinde spermatidlerde ve ejaküle spermatozoaların kuyruğunda tespit edilmiştir (Pequeno ve ark., 2024). AQP7'nin bu çeşitli bölgelerdeki varlığı hem spermatozoa başı hem de flagellar fonksiyonuyla ilgili potansiyel olarak çoklu rollere sahip olabileceğini düşündürmektedir.

2.6.2. AQP3 ve AQP7'nin Fonksiyonel Rollerini

Aquaporin 3, testis veya eferent kanallarda bulunmaz, ancak sıçan epididiminde hücreye özgü bir şekilde bulunmuştur. Aslında, AQP3 bazal hücrelerde bulunurken, ana, berrak ve dar hücrelerde bulunmaz (Hermo ve ark., 2004; Yeste ve ark., 2017). AQP3'ün spermilerin dişi üreme yolunda karşılaştığı ozmotik değişikliklere, özellikle de uterusun hipotonik ortamına uyum sağlama yeteneği için gerekli olduğu gösterilmiştir. AQP3 eksikliği olan fareler üzerinde yapılan çalışmalar, spermilerinin düzenleyici hacim azalmasında (RVD) bozulma gösterdiğini ve hipotonik stres altında şişmeye karşı daha savunmasız olduğunu, bunun da kuyruk bükülmesine ve azalmış doğurganlığa yol açtığını göstermiştir. Spermatozoa defekti, erkek-dişi üreme kanalı geçişi sırasında fizyolojik hipotonik strese yanıt olarak bozulmuş spermatozoa hacmi düzenlemesi ve ilerleyici hücre şişmesinin bir sonucudur (Chen ve ark., 2011).

Aquaporin 7 ilk sıçan testisinin seminifer epitelinde tanımlandı ve spermiyogenez sırasında sitoplazmanın azalmasında rol oynadığı öne sürüldü. Bu protein, testisteki uzun spermatidlerde, spermde ve kalıntı cisimlerde ve epididimin bazal, şeffaf ve halo hücrelerinde bulunur. AQP7, özellikle dondurma ve çözme sırasında spermilerin önemli ozmotik streslere maruz kaldığı kriyoprezervasyon bağlamında, spermatozoa ozmoregülasyonunda da rol oynayabilir. İnsanlarda yapılan araştırmalar, AQP7 ile sperm motilitesi arasında güçlü bir bağlantı olduğunu göstermiştir (Calamita, Mazzone, Bizzoca, ve ark., 2001; Calamita, Mazzone, Cho, ve ark., 2001). AQP7, spermatozoon zarından gliserolün transportunu kolaylaştırır; bu gliserol geçirgenliği, enerji metabolizması ve osmotik denge yoluyla sperm hareketliliğinin korunmasında belirleyici bir rol oynar. Astenozoospermi tanısı konmuş bireylerden elde edilen spermelerde AQP7 aracılığıyla gliserol taşınmasında bozulmalar bildirilmiştir. Öte yandan kapasitasyon sonrası spermelerde AQP7 ekspresyonunun arttığı ve bu artışın hiperaktivasyonun ortaya

çıkmasında —güçlü flagellar hareketi sağlayarak— işlevsel öneme sahip olabileceği öne sürülmektedir. Bu veriler, AQP7'yi yalnızca bir taşıyıcı protein olarak değil, sperm motilitesi ve fertilizasyon potansiyelinin düzenlenmesinde merkezi bir moleküler belirleyici olarak konumlandırmaktadır (Ribeiro ve ark., 2023). Kapasitasyon, spermlerin bir yumurtayı dölleme yeteneği kazanmak için dişi üreme yolunda geçirmesi gereken ejakülasyon sonrası olgunlaşma sürecidir. Genel olarak aquaporinlerin, kapasitasyon sırasında sperm motilitesini ve spermatozoa zarının yapısal bütünlüğünü korumak için gerekli olduğu gösterilmiştir. AQP3 hidrojen peroksite geçirgen olsa da kapasitasyon ve sonraki akrozom reaksiyonu (yumurtanın dış katmanlarına nüfuz etmek için gerekli spermin başından enzimlerin salınımı) için bu spesifik geçirgenliğin kritik olmadığına dair çalışmalar bulunmaktadır (Delgado-Bermudez ve ark., 2021). Akuagliseroprinler olarak hem AQP3 hem de AQP7 zar boyunca gliserol taşıyabilir (Chen ve ark., 2022). Gliserolün, özellikle epididimal olgunlaşma ve kapasitasyon sırasında sperm biyoenerjisi için önemli bir substrat olabileceği hipotezi öne sürülmüştür (Ribeiro ve ark., 2023). AQP3 ve AQP7, gliserol alımını veya çıkışını kolaylaştırarak, spermatozoa içindeki enerji metabolizmasının düzenlenmesinde potansiyel olarak rol oynayabilirler.

2.7. Sperm Hücrelerinde Oksidatif Stres, Enflamasyon ve Apoptoz

Oksidatif stres (OS), reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimi ile bunları nötralize etme kapasitesine sahip antioksidan savunma sistemleri arasındaki dengesizlikten kaynaklanır (Kaltsas, 2023). Düşük seviyelerde ROS, kapasitasyon ve akrozom reaksiyonu gibi normal sperm fonksiyonları için gerekli olsa da aşırı ROS üretimi seminal plazmada ve spermatozoada bulunan antioksidan savunma sistemlerini aşabilir.

Erkek üreme sistemindeki ROS kaynakları çeşitlidir ve iltihaplanma veya enfeksiyon sırasında büyük miktarda ROS üretebilen metabolik olarak aktif lökositleri, özellikle nötrofilleri ve makrofajları içerir (Wang ve ark., 2025). Aşırı rezidüel

sitoplazmaya sahip olgunlaşmamış veya anormal spermier de glikoz-6-fosfat dehidrojenaz (Du ve ark., 2024) gibi enzimlerin varlığı nedeniyle önemli bir ROS kaynağı olabilir. Sperm içindeki mitokondriyal disfonksiyon, enerji metabolizmasının bir yan ürünü olarak artan ROS üretimine yol açabilir. Çevresel kirleticiler, toksinler, radyasyon ve sigara ve alkol tüketimi gibi yaşam tarzı seçimleri gibi dış faktörler de erkek üreme sistemindeki ROS üretimini daha da kötüleştirebilir ve oksidatif strese katkıda bulunabilir (Wang ve ark., 2025).

Spermatozoa, benzersiz hücresel özellikleri nedeniyle oksidatif stresin zararlı etkilerine karşı özellikle savunmasızdır. Plazma zarları, zar bütünlüğünü ve akışkanlığını bozan, sperm hareketliliğinin ve canlılığının kaybına neden olan bir zincirleme reaksiyon olan lipid peroksidasyonuna karşı oldukça duyarlı olan çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA'lar) açısından zengindir (Kaltsas, 2023). Sperm hücreleri, diğer hücre tiplerine kıyasla oldukça sınırlı bir sitoplazmaya sahiptir. Bu durum, hücre içindeki antioksidan enzim seviyelerinin düşük olmasına ve DNA onarım kapasitesinin azalmasına yol açar. Sonuç olarak sperm DNA'sı, reaktif oksijen türleri (ROS) kaynaklı parçalanma ve hasara karşı oldukça savunmasız hale gelir. Oksidatif stres, sperm hücrelerindeki proteinleri doğrudan oksitleyerek yapılarını bozabilir. Proteinlerde meydana gelen bu hasar, sperm hücrelerinin hareketliliği ve dölleme yeteneği gibi kritik işlevlerini olumsuz yönde etkiler (Wang ve ark., 2025). Erkek üreme sistemindeki inflamasyonun giderek artan bir şekilde erkek infertilitesine önemli bir katkıda bulunduğu kabul edilmektedir (Rege ve ark., 2019). İnflamasyon, bakteri (*Escherichia coli*, *Chlamydia trachomatis* gibi), virüsler veya mantarların neden olduğu enfeksiyonlar ile varikosel, ejakülatuar kanal tıkanıklığı, testis torsiyonu ve belirli toksinlere veya ilaçlara maruz kalma gibi enfeksiyöz olmayan durumlar dahil olmak üzere çeşitli kaynaklardan kaynaklanabilir (Potiris ve ark., 2025). Sistemik inflamatuvar durumlar ve hatta obezite gibi yaşam tarzı faktörleri de üreme

sistemindeki inflamasyona katkıda bulunabilir (Youngson ve ark., 2019). Bazı durumlarda inflamasyon kronik ve hatta asemptomatik olabilir, ancak yine de sperm kalitesi üzerinde zararlı etkiler gösterebilir (Azenabor ve ark., 2015). İnflamatuar yanıt, bağışıklık hücrelerinin aktivasyonunu ve tümör nekroz faktörü-alfa (TNF- α), interlökin-6 (IL-6) ve interlökin-1 beta (IL-1 β) gibi çeşitli pro-inflamatuar mediatörlerin salınımını içerir. Bu sitokinler, germ hücresi gelişimi için gerekli olan hassas hormon ve büyüme faktörleri dengesini bozarak spermatogenezini doğrudan çoklu seviyelerde etkileyebilir (Fomichova ve ark., 2025). Dahası, inflamasyon sıklıkla ROS üreten bağışıklık hücrelerini aktive ederek oksidatif stres artışına yol açar ve sperm DNA, lipid ve proteinlerine verilen hasarı daha da kötüleştirir. İnflamasyon ayrıca kan-testis bariyerinin bütünlüğünü tehlikeye atabilir ve gelişen germ hücrelerini zararlı maddelere ve bağışıklık saldırısına karşı potansiyel olarak savunmasız hale getirebilir (Delgado-Bermudez ve ark., 2022).

Apoptoz veya programlanmış hücre ölümü, testisler içindeki erkek germ hücresi popülasyonunu düzenlemede önemli bir rol oynayan normal bir fizyolojik süreçtir (Ojo ve ark., 2023). Hasarlı veya anormal germ hücrelerini ortadan kaldırarak ve germ hücreleri ile Sertoli hücreleri arasındaki uygun oranı koruyarak, bir kalite kontrol mekanizması görevi görür (Asadi ve ark., 2021). Apoptoz, hücre büzülmesi, nükleer DNA parçalanması, kromatin yoğunlaşması ve zar kabarcıklanması dahil olmak üzere spesifik morfolojik değişikliklerle karakterizedir. Ancak, spermde anormal apoptoz, spermatozoa üretimi ve kalitesi üzerinde zararlı etkilere sahip olabilir ve sonuçta erkek infertilitesine katkıda bulunabilir. Artan oksidatif stres ve inflamasyon seviyeleri, spermde apoptozun önemli tetikleyicileridir. ROS doğrudan DNA hasarına neden olabilir ve apoptotik yolları aktive edebilirken, pro-inflamatuar sitokinler de germ hücresi ölümünü teşvik edebilir. Spermde anormal apoptoz, azalmış spermatozoa sayısına

(oligospermi) ve hasarlı DNA'ya sahip spermatozoa oranının artmasına yol açabilir; her ikisi de döllemeyi ve embriyo gelişimini bozabilir (Ojo ve ark., 2023).

2.8. Sperm Hücrelerinde Kriyoprezervasyon Süreci

Sperm kriyoprezervasyonu, spermlerin gelecekte kullanılmak üzere canlılıklarını korumak amacıyla ultra düşük sıcaklıklara, tipik olarak sıvı nitrojen içinde -196°C 'ye soğutulmasını içeren yaygın olarak kullanılan bir tekniktir (Tamburrino ve ark., 2024). Bu işlem, biyolojik aktiviteyi esasen askıya alarak spermlerin yardımcı üreme teknolojilerinde veya genetik kaynak bankacılığı için uzun süre saklanmasına olanak tanır.

Sperm kriyoprezervasyonunun başarısı, dondurma işlemi sırasında soğutma hızlarının dikkatli bir şekilde kontrol edilmesine bağlıdır. Soğutma hızı, hücre içi organellere ve zarlarda onarılamaz hasara neden olabilen hücre içi buz kristallerinin oluşumunu önleyecek şekilde optimize edilmelidir. Hücre dışı buz oluşumuyla oluşan hiperozmotik koşullara uzun süreli maruz kalmaya bağlı aşırı hücresel dehidrasyondan kaçınılmalıdır (Sharma & Sharma, 2020). Programlanabilir yavaş dondurma ve sıvı nitrojen buharlarında hızlı dondurma yaygın olarak kullanılan tekniklerdir. Kriyoprotektanlar (KPA'lar), dondurma ve çözme sırasında meydana gelen hasarı (kriyoinjürileri) en aza indirmek için kullanılan dondurma ortamlarının temel bileşenleridir. KPA'lar, hücre zarına nüfuz edebilen (örneğin, gliserol, dimetil sülfoksit-DMSO, etilen glikol) ve hücre içi yapıları koruyanlar ile öncelikle hücre dışı etki göstererek ozmotik basınç oluşturan ve hücre zarını stabilize eden nüfuz etmeyenler (örneğin, sükroz, trehaloz, yumurta sarısı) olarak sınıflandırılabilir. KPA'ların seçimi ve konsantrasyonu kritiktir ve genellikle türe özgüdür (Ozmic ve ark., 2023).

Kriyoprotektanların dondurmadan önce eklenmesi ve çözülmeden sonra çıkarılması sırasında meydana gelen ozmotik basınç değişikliklerine spermler oldukça

duyarlıdır. Bu ozmotik gradyanlara yanıt olarak suyun yarı geçirgen spermatozoa zarından hızlı hareketi, hiperozmotik koşullar altında önemli hücresel strese, hücre büzülmesine ve hipoozmotik koşullar altında hücre şişmesine ve potansiyel olarak lizise yol açabilir (Ozmic ve ark., 2023). Ozmotik stres ayrıca reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumuna katkıda bulunarak kriyohasarını daha da kötüleştirebilir (Kuzelova ve ark., 2024).

Kriyoprezervasyon ortamına kurkumin eklenmesinin, çözündürme sonrası progresif sperm motilitesi, kromatin yoğunlaşması ve DNA bütünlüğü üzerinde olumlu etkiler oluşturduğu bildirilmiştir. Bu bulgular, kurkuminin kriyoprezervasyonun insan spermatozoası üzerinde oluşturduğu olumsuz etkileri hafifletici potansiyele sahip olduğuna kanıt sağlamaktadır (Nur Karakus ve ark., 2021). Kriyoprezervasyon süreci kaçınılmaz olarak sperm hücreleri içinde reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretiminde artışa yol açarken, endojen antioksidan savunmasını aynı anda tüketir. Bu dengesizlik, oksidatif strese neden olur ve bu da lipidlerin peroksidasyonu yoluyla spermatozoa lipidlerine önemli hasar verebilir, bu da zar akışkanlığı ve bütünlüğünün kaybına ve ayrıca spermatozoa DNA ve proteinlerine zarar vererek nihayetinde sperm motilitesini, canlılığını ve döllenme kapasitesini bozar (Wang ve ark., 2025).

Kriyoprezervasyon sırasında soğutma hızı yeterince hızlı değilse veya hücresel dehidrasyon yetersizse, hücre içi su donarak buz kristalleri oluşturabilir. Bu buz kristalleri, plazma zarı, mitokondri ve çekirdek dahil olmak üzere hücresel organelleri fiziksel olarak bozarak geri dönüşü olmayan hasara ve hücre ölümüne yol açabilir. Soğutma hızının ve kriyoprotektan konsantrasyonunun kontrol edilmesi, hücre içi buz kristali oluşumunu en aza indirmek için çok önemlidir (Ozmic ve ark., 2023).

Soğuk şoku, spermlerin fizyolojik sıcaklıklardan sıfırın altındaki sıcaklıklara hızla soğutulmasıyla spermatozoa zarlarında meydana gelebilen ani ve geri dönüşü olmayan

hasarı ifade eder. Spermatozoa, özellikle lipitler açısından zengin olan plazma zarları, ani sıcaklık değişikliklerine maruz kaldıklarında faz geçişlerine ve yapısal hasara karşı hassastır. Bu, zar bütünlüğünün kaybına, iyon taşınımının bozulmasına ve sperm motilitesinin ve canlılığının azalmasına neden olabilir (Sharma & Sharma, 2020).



3. MATERYAL VE METOT

3.1. Etik kurul, Kimyasallar ve Materyal

Çalışma için Atatürk Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan izin alınmıştır (Protokol no: 2024/03-78).

Araştırmada toplam 28 adet Sprague Dawley erkek rat (250–300 g arası), her grupta 7 hayvan olacak şekilde 4 gruba ayrıldı. Hayvanlar Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Uygulamalar ve Araştırmalar Merkezi (ATADEM)'nden temin edildi. Çalışma süresince hayvanlara yem ve su ad libitum sağlandı. Uygulama öncesinde ratlar, 7 gün boyunca deney ortamına adapte edildi.

Deneysel Uygulamalar:

Gruplar aşağıdaki şekilde oluşturuldu:

Kontrol Grubu: Ratlara 28 gün boyunca oral yolla Tween 80 verildi.

Düşük Doz Grubu: Ratlara 28 gün boyunca oral yolla, Tween 80 içerisinde çözdürülmüş 100 mg/kg/vücut ağırlığı dozunda kurkumin verildi (Bhatt ve ark., 2022).

Orta Doz Grubu: Ratlara 28 gün boyunca oral yolla, Tween 80 içerisinde çözdürülmüş 500 mg/kg/vücut ağırlığı dozunda kurkumin verildi (Bhatt ve ark., 2022).

Yüksek Doz Grubu: Ratlara 28 gün boyunca oral yolla, Tween 80 içerisinde çözdürülmüş 1500 mg/kg/vücut ağırlığı dozunda kurkumin verildi (Bhatt ve ark., 2022)

Oral uygulamaların bitimini takiben 24 saat sonra, ratlar hafif sevofluran anestezisi altında sakrifiye edildi. Testis dokuları biyokimyasal ve histopatolojik analizler için, epididimis dokuları ise spermatolojik değerlendirmeler için alındı.

3.2. Biyokimyasal Analizler

3.2.1. Western Blot Analizi

100 µL sıçan sperm örneği, proteaz ve fosfataz inhibitörleri ile desteklenmiş RIPA (Radioimmünopresipitasyon) lizis tamponu (Santa Cruz Biotechnology, Inc.) içinde yüz mikrolitre ile homojenize edildi. Homojenizasyon, 30 Hz'de 20 saniye boyunca bir doku ezici (Tissue Lyser II, Qiagen) kullanılarak gerçekleştirildi. Örnekler, 4 °C'de 10.000 × g'de 20 dakika santrifüjlenerek süpernatant elde edildi.

Süpernatantların protein konsantrasyonu, sığır serum albümini (BSA) standart olarak kullanılarak, Pierce BCA Protein Tayini Kiti (Thermo Scientific, IL, USA) ile ölçüldü. Protein konsantrasyonu seyreltme yoluyla standart hale getirildi ve süpernatandan 30 mikrogram protein, Laemmli örnek tamponu içerisinde çözündürüldü ve %10 sodyum dodesil sülfat-poliakrilamid jel elektroforezi (SDS-PAGE) ile ayrıldı.

Elektroforez tamamlandıktan sonra, proteinler poliviniliden florür (PVDF) membranlara aktarıldı. Membranlar, balık jelatini ile 1,5 saat oda sıcaklığında bloke edildi, ardından AQP3, AQP7 (AF5222, DF7717 Affinity Biosciences, Çin) ve β-tübülün (5274, Santa Cruz Biotechnology) hedefleyen birincil antikorlar ile 4 °C'de bir gece boyunca inkübe edildi.

Birincil antikor uygulamasının ardından, membranlar fosfat tamponlu salin ve %0,5 Tween 20 içeren çözelti (PBST, pH 7.4) ile beş kez, her biri 5 dakika süren yıkamadan geçirildi. Daha sonra, membranlar 1:500/1:1000 (AF5222/DF7717) oranında seyreltilmiş keçi anti-tavşan veya keçi anti-fare IgG ikincil antikorları ile 1,5 saat inkübe edildi.

Protein bantları, Western ECL Substratı (Bio-Rad Laboratories, Inc) ile geliştirilen geliştirilmiş kemilüminesans reaktifi kullanılarak görüntülendi ve GE LAS 500 jel görüntüleme sistemi (GE Healthcare Bio-Sciences AB) ile kaydedildi. Bantların görel

yoğunluğu, TL120 jel analiz yazılımı (Nonlinear Dynamics Ltd, Newcastle, UK) kullanılarak değerlendirildi (Ozkanlar ve ark., 2023).

3.3. Histopatolojik Analizler

Deney süresinin sonunda, sıçanlardan elde edilen testis dokuları %10 nötral formaldehit solüsyonunda 72 saat süreyle fikse edildi. Fiksasyon süreci boyunca solüsyon her 24 saatte bir yenilenerek doku bütünlüğünün korunması sağlandı. Takiben, dokular sırasıyla %70, %80, %96 ve %100 etanol serilerinden ve ardından ksilolden geçirilerek rutin doku takip işlemleri tamamlandı ve parafin bloklarına gömüldü. Histopatolojik değerlendirme amacıyla, parafin bloklardan mikrotom (Leica RM2125 RTS) yardımıyla 5 µm kalınlığında kesitler alındı. Kesitler, Crossman tarafından modifiye edilen Mallory'nin üçlü boyama yöntemi ile boyandı ve olası doku hasarları ışık mikroskobu altında incelendi.

Testis dokusundaki histolojik değişiklikler, Cosentino ve arkadaşlarının tanımladığı dört dereceli skorlama sistemine göre değerlendirildi (Cosentino ve ark., 1985; Khezri ve ark., 2023). Bu sınıflandırmaya göre:

- **Derece 1** (normal): Germ hücreleri seminifer tübül duvarı boyunca düzgün ve düzenli bir biçimde sıralanmıştır.
- **Derece 2:** Seminifer tübüller daha düzensizdir, germ hücreleri birbirine yapışmamış ancak sıkışmış bir şekilde yerleşmiştir.
- **Derece 3:** Germ hücre çekirdeklerinde piknoz ve büzüşme gözlenmiş, seminifer tübüllerin morfolojisi bozulmuş ve hücreler dökülerek düzensiz bir yapı kazanmıştır.
- **Derece 4:** Koagülatif nekroz sonucu seminifer tübüller, sıkıca paketlenmiş ve yapısal bütünlüğü kaybetmiş germ hücreleriyle doludur.

Mikroskopik incelemeler, bilgisayarlı kamera sistemi entegre edilmiş trinoküler bir ışık mikroskobu (Nikon Eclipse 50i) ile gerçekleştirildi.

3.4. Relatif Üreme Organ Ağırlıkları

Kesilen sıçanlara ait testis ağırlıkları, epididimis ağırlıkları, ventral prostat ağırlığı ve vesicula seminalis ağırlıkları hassas terazi (Radwag, R2, Almanya) yardımıyla ölçüldü (Akarsu ve ark., 2023).

3.5. Sperma Analizleri

Sıçanlar sakrifiye edildikten sonra, eksize edilen testis dokusu epididimisten ayrılmıştır. Kauda epididimis kısmı, 35°C'ye ısıtılmış 5 mL fizyolojik salin içerisinde trimlenerek, 5 dakika süreyle inkübe edilmiştir ve böylece sperm sıvısı elde edilmiştir. Spermada total motilite tayini için, ısıtma tablası üzerine yerleştirilen ışık mikroskobuna (Primo Star; Carl Zeiss) lam yerleştirilmiş; sperm sıvısından 20 µL lam üzerine damlatılarak lamel ile kapatılmıştır. Total motilite, yüzde olarak değerlendirilmiştir (Akarsu ve ark., 2023).

Sperm yoğunluğu tayini amacıyla, 5 µL semen örneği Eppendorf tüpüne alınmış, üzerine 995 µL eozin solüsyonu eklenmiş ve karışım 1000 g'de 15 saniye vortekslendikten sonra, 10 µL'si Thoma lamına aktarılmıştır. Sperm sayımları, 400x büyütme ayarlanmış ışık mikroskobu (Primo Star, Carl Zeiss) kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Ölü spermatozoa oranı ile anormal sperm oranı tayini için, 10 µL semen ve 10 µL %5 eozin boyası lam üzerine alınarak lamel ile karıştırılmış ve smear hazırlanıp kurutulmuştur. Ölü spermatozoa oranı tayininde, lam başına 200 spermatozoa ışık mikroskobu ile incelenmiş ve başın lekelenme durumuna göre sperm hücreleri ölü olarak sınıflandırılmıştır. Anormal sperm oranının değerlendirilmesinde ise aynı lam üzerinde

toplam 200 spermatozoon incelenerek anormallik oranları yüzde olarak hesaplanmıştır.(Taherian ve ark., 2019).

3.5.1. Sperm DNA Hasarı Oranının Belirlenmesi

Her gruptan 10–100 µL sperm örneği alınarak froti hazırlanmış ve kurutulmuştur. Kurutulmuş lamalar, Carnoy solüsyonunda (1:3 oranında glasiyal asetik asit ve metanol karışımı) 2 saat süreyle fikse edilmiştir. Fiksasyonun ardından lamalar distile su ile yıkanmış ve örnekler taze hazırlanmış akridin orange solüsyonu ile oda sıcaklığında boyanmıştır. Akridin orange solüsyonu, distile suda 10 mL %0.1 akridin orange, 40 mL 0.1 mol/L sitrik asit ve 2.5 mL spermatozoa yüzdesi hesaplanmıştır (Taherian ve ark., 2019).

3.6. İstatiksel Analizler

Spermatolojik ve biyokimyasal parametreler, ortalama \pm standart hata (SEM) olarak ifade edilmiştir. İstatistiksel anlamlılık için p değeri 0.05'ten küçük olması kriteri esas alınmıştır. Grup değerlerinin karşılaştırılması amacıyla, IBM SPSS programı (versiyon 26.0) kullanılarak tek yönlü varyans analizi (ANOVA) uygulanmış ve gruplar arasındaki çift yönlü karşılaştırmalar post hoc Tukey testi ile gerçekleştirilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. Genel Vücut ve Üreme Organ Ağırlıkları

Canlı ağırlık açısından, düşük doz grubundaki sıçanların canlı ağırlıkları (265.7 ± 17.31), kontrol (340.33 ± 4.60), orta (333.57 ± 9.11) ve yüksek (344.28 ± 8.82) doz gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulunmuştur ($p < 0.001$). Tablo 4.1.'de görüldüğü üzere kontrol, orta ve yüksek gruplar arasında canlı ağırlık açısından anlamlı bir fark gözlenmemiştir.

Testis ağırlıkları incelendiğinde, düşük doz grubunun testis ağırlığı (2.85 ± 0.15) yüksek doz grubuna (3.26 ± 0.10) göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur ($p < 0.001$). Kontrol (3.14 ± 0.06) ve orta doz (3.16 ± 0.08) gruplarının testis ağırlıkları ise düşük ve yüksek doz grupları arasında istatistiksel olarak farklılık göstermemiştir.

4.2. Spermatolojik Parametreler

Sperm motilitesi, plazma membran hasar oranı, DNA fragmantasyon oranı ve anormal spermatozoon oranına ilişkin istatistiki bulgular Tablo 4.1.'de özetlenmiştir.

Tablo 4.1. Spermatolojik analiz sonuçları

	Canlı ağırlık (g)	Testis ağırlığı (g)	Motilite (%)	Plazma membran hasar oranı (%)	Anormal spermatozoon oranı (%)	DNA fragmantasyon oranı (%)
Kontrol	340.33 ± 4.60^b	3.14 ± 0.06^{ab}	77.50 ± 2.14^c	11.00 ± 1.03^a	7.00 ± 0.44^a	15.16 ± 1.27^b
Düşük	265.57 ± 17.31^a	2.85 ± 0.15^a	37.85 ± 4.20^a	17.00 ± 1.27^b	6.71 ± 0.71^a	25.85 ± 0.91^c
Orta	333.57 ± 9.11^b	3.16 ± 0.08^{ab}	67.14 ± 3.75^b	12.00 ± 0.81^a	5.28 ± 0.42^a	8.57 ± 0.64^a
Yüksek	344.28 ± 8.82^b	3.26 ± 0.10^b	65.71 ± 2.54^b	21.14 ± 1.18^c	9.42 ± 0.89^b	37.14 ± 0.91^d

Not: Üst simge harfleri (a, b, c, d) gruplar arasındaki farkı göstermektedir. $p < 0.001$.

Tek Yönlü ANOVA, 2 Welch'in F testi yapılmıştır.

Veriler ortalama \pm standart hata olarak sunuldu.

4.2.1. Motilite

Kontrol grubunun sperm motilitesi (77.50 ± 2.14), kurkumin uygulanan tüm gruplardan (düşük: 37.85 ± 4.20 ; orta: $67.14 \pm .75$; yüksek: 65.71 ± 2.54) istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p < 0.001$). En düşük motilite oranı düşük doz grubunda gözlenmiştir. Orta ve yüksek doz grupları arasında motilite açısından anlamlı fark olmamakla birlikte, her iki grubun motilitesi de kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede düşük olarak tespit edilmiştir ($p < 0.001$).

4.2.2. Plazma Membran Hasar Oranı

Plazma membran hasar açısından, yüksek doz grubu (21.14 ± 1.18) en yüksek hasar oranına sahip olup, kontrol (11.00 ± 1.03), düşük (17.00 ± 1.27) ve orta (12.00 ± 0.81) doz gruplarından istatistiksel olarak anlamlı derecede farklı bulunmuştur ($p < 0.001$). Düşük doz grubunun plazma membran hasar oranı, kontrol ve orta doz gruplarına kıyasla anlamlı derecede daha yüksektir. Kontrol ile orta doz grupları arasında ise anlamlı bir fark tespit edilmemiştir.

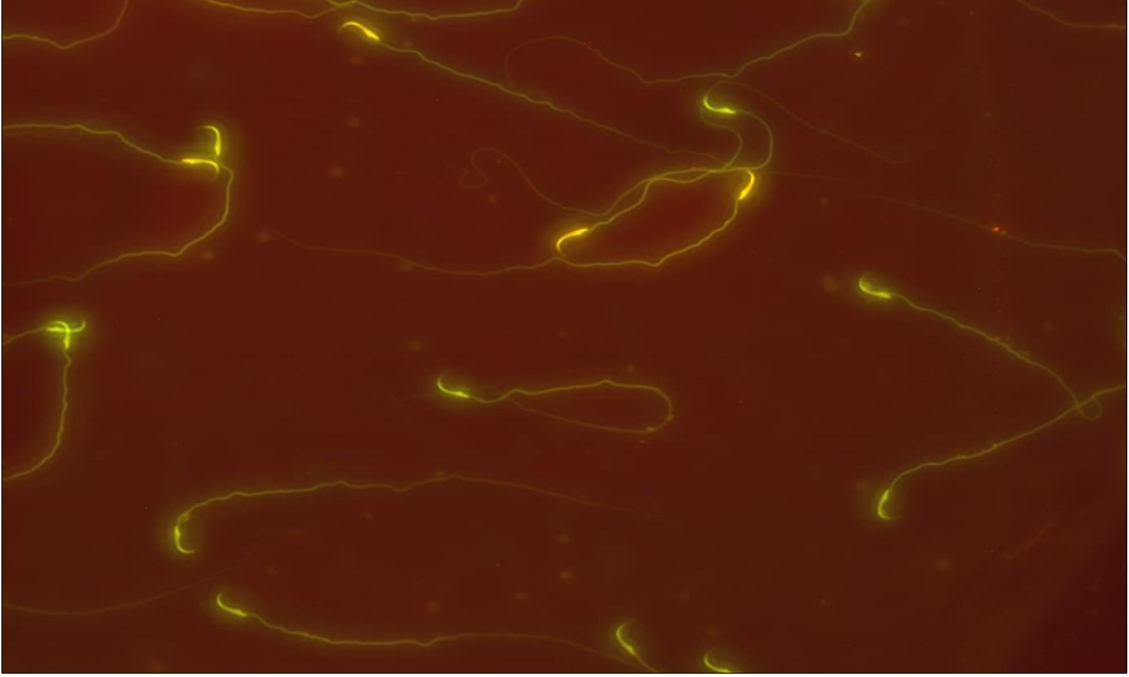
4.2.3. Anormal Spermatozoon Oranı

Anormal spermatozoon oranı sadece yüksek doz grubunda (9.42 ± 0.89) kontrol (7.00 ± 0.44), düşük (6.71 ± 0.71) ve orta doz (5.28 ± 0.42) gruplarına kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p < 0.001$). Kontrol, düşük ve orta doz grupları arasında ise anormal spermatozoon oranı açısından anlamlı bir fark gözlenmemiştir.

4.2.4. DNA Fragmentasyon Oranı

DNA fragmentasyon oranı kontrol grubunda 15.16 ± 1.27 iken; düşük doz grubunda 25.85 ± 0.91 , orta doz grubunda 8.57 ± 0.64 ve yüksek doz grubunda 37.14 ± 0.91 olarak saptanmıştır. İstatistiksel analizler, orta doz grubunun tüm diğer gruplardan (kontrol, düşük, yüksek) anlamlı derecede düşük DNA fragmentasyon oranına

sahip olduğunu göstermiştir ($p < 0.001$). Düşük doz grubunun, kontrol ve orta doz gruplarına kıyasla anlamlı derecede yüksek, ancak yüksek doz grubunun altında DNA fragmentasyonu sergilediği; yüksek doz grubunun ise tüm gruplardan anlamlı derecede yüksek DNA fragmentasyon oranına sahip olduğu belirlenmiştir ($p < 0.001$).

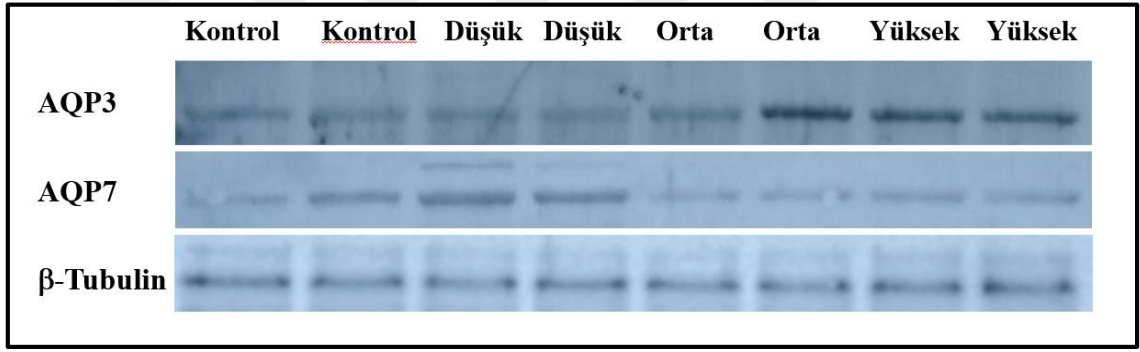


Şekil 4.1. Rat spermatozoalarının Acridine Orange ile boyanmış floresan mikroskop görüntüsü. Yeşil floresan, bütün DNA'yı; kırmızı/turuncu floresan ise hasarlı DNA'yı göstermektedir.

4.3. Western Blot Analizi Sonuçları

Western Blot analizi ile elde edilen verilere göre, AQP3 ve AQP7 protein ekspresyon düzeyleri, 28 gün boyunca farklı dozlarda kurkumin uygulanan rat grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermiştir ($p < 0.05$). ANOVA testi sonuçları hem AQP3 hem de AQP7 ekspresyon yoğunluklarında doz bağımlı değişikliklerin olduğunu ortaya koymuş ve bu bulgular Şekil 4.2 ile Tablo 4.2'de sunulmuştur.

Kontrol grubuna ait bireysel değerler incelendiğinde, AQP3 ekspresyon ortalaması 2081.50 ± 80.68^a olarak hesaplanmıştır. Düşük doz grubunda bu değer 2117.98 ± 73.17^a bulunmuş ve kontrol grubuyla istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermemiştir ($p > 0.05$). Orta doz grubunda AQP3 düzeyi anlamlı şekilde artmış ve ortalama 11165.75 ± 855.63^b olarak tespit edilmiştir. Yüksek doz grubunda ise AQP3 ekspresyonu 16304.50 ± 449.98^c ile en yüksek seviyeye ulaşmıştır. Harf gruplandırmaları dikkate alındığında, orta ve yüksek doz grupları kontrol ve düşük doz gruplarından istatistiksel olarak anlamlı düzeyde farklılık göstermektedir ($p < 0.05$). Bu sonuçlar, kurkuminin artan dozlarla birlikte AQP3 ekspresyonunu önemli ölçüde uyardığını ortaya koymuştur.



Şekil 4.2. Farklı doz gruplarında (kontrol, düşük, orta, yüksek) AQP3 (üst bant), AQP7 (orta bant) ve yükleme kontrol proteini (β-Tubulin) (alt bant) ekspresyonunu gösteren Western Blot görüntüleri. Her bir doz grubu için çoklu örnekler gösterilmektedir.

Tablo 4.2. Dört farklı doz grubunda AQP3 ve AQP7 protein ekspresyon düzeyleri

Not: Üst simge harfleri (a, b, c, d) gruplar arasındaki farkı göstermektedir. $p < 0.05$

	AQP3	AQP7
Kontrol	2081.50 ± 80.68^a	13833.75 ± 391.51^b
Düşük	2117.98 ± 73.17^a	25645.50 ± 1009.65^c
Orta	11165.75 ± 855.63^b	$11934.00 \pm 1014.34^{ab}$
Yüksek	16304.50 ± 449.98^c	10533.00 ± 394.86^a

Veriler ortalama \pm standart sapma olarak verilmiştir.

Tek Yönlü ANOVA yapılmıştır.

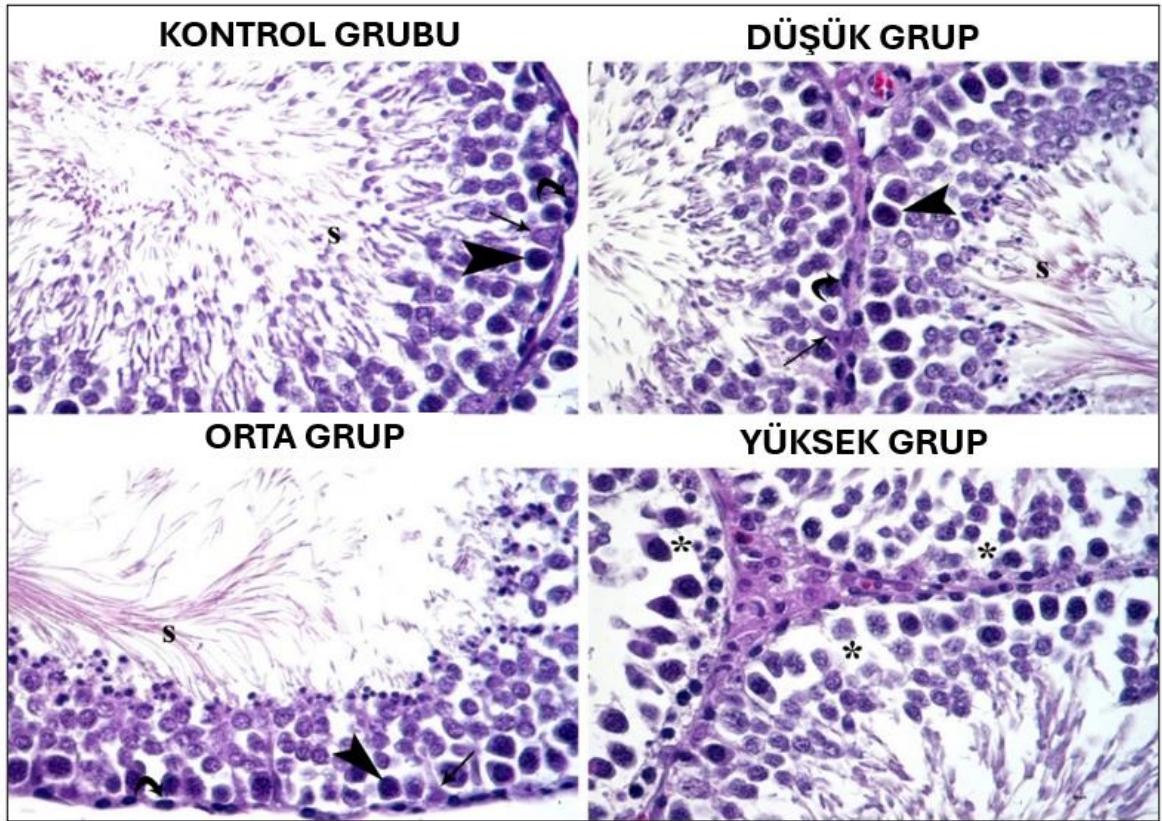
4.4. Histopatolojik Analizler

Kontrol grubunda, testis dokusunun genel histo-morfolojik yapısı korunmuştur. Şekil 4.3'te görüldüğü gibi seminifer tübüller düzgün şekilli, bazal membran belirgin, germinal hücreler ise fizyolojik düzen içinde dizilmiş şekilde gözlenmiştir. Seminifer tübül lümenlerinde bol miktarda spermatozoon tespit edilmiş, Sertoli hücreleri ve spermatogonyumlar normal morfolojide izlenmiştir.

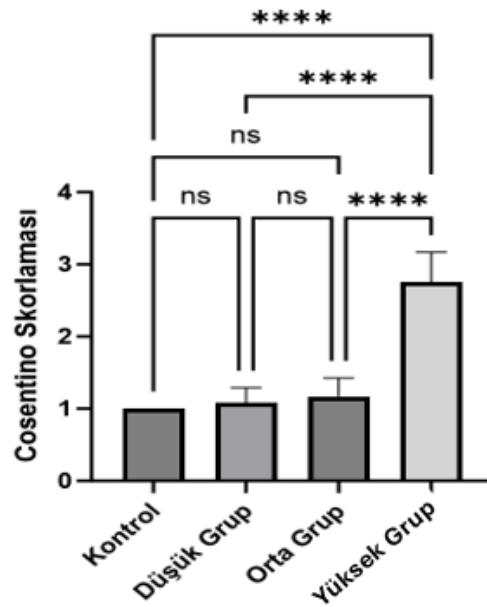
100 mg/kg (Düşük Doz) ve 500 mg/kg (Orta Doz) kurkumin uygulanan gruplarda, testiküler histolojinin büyük oranda Kontrol grubuna benzer olduğu belirlenmiştir. Seminifer tübüller düzgün mimaride, germinal hücreler düzenli tabakalanmış ve spermatozoon yoğunluğu korunmuştur.

Buna karşılık, 1500 mg/kg dozunda kurkumin uygulanan (Yüksek Grup) ratlarda testiküler yapının belirgin şekilde bozulduğu gözlemlenmiştir. Bulgular Şekil 4.3.'te gösterilmiştir. Seminifer tübül epitelinde hücre sıralanmasında düzensizlikler, germ hücrelerinde lümene dökülmeler, epitel yüksekliğinde azalma ve hücre çekirdeklerinde piknoz dikkat çekmiştir. Bazı tübüllerde, koagülatif nekrozu düşündürülen şekilde, yapısal bütünlüğü bozulmuş hücre kitlelerinin tübül lümenini doldurduğu görülmüştür. Sertoli hücrelerinin belirginliğinde azalma ve bazal membranda düzensizlikler de bu grupta gözlenen diğer patolojik değişiklikler arasında yer almıştır.

Histopatolojik bulgular Cosentino skorumaya sistemine göre değerlendirilmiş ve sonuçlar Şekil 4.4.'te özetlenmiştir. Yüksek Grup (1500 mg/kg kurkumin) diğer tüm gruplara kıyasla anlamlı derecede daha yüksek histopatoloji skorları almıştır (****p ≤ 0.0001). Düşük ve Orta Doz grupları ile Kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır (ns; p> 0.05).



Şekil 4.3. Crossman'ın Modifiye Ettiği Mallory'nin Üçlü Boyaması ile boyanmış testis seminifer tübüleri. Kıvrık ok: Spermatogonyum, İnce ok: Sertoli Hücresi, Ok başı: Primer spermatosit, s: Tübül lümenindeki spermatozonlar, Yıldız: Seminifer tübül



epitelinde dejenerasyon, Büyütme: 600X.

Şekil 4.4. Cosentino skoruması sistemine göre testis histolojisinin değerlendirilmesi. Değerler ortalama \pm SD olarak verilmiş ve tek yönlü ANOVA ve ardından Tukey testi ile analiz edilmiştir. ns (önemli değil, $p > 0.05$), **** ($p \leq 0.001$).

5. TARTIŞMA

Bu tez çalışması, kurkuminin erkek üreme sistemine etkilerini inceleyerek özellikle aquaporin ekspresyonu, sperm parametreleri ve testiküler histopatoloji üzerine olan etkilerini değerlendirmeyi amaçlamıştır. Özellikle aquaporin-3 ve aquaporin-7 proteinlerinin ekspresyonu, sperm kalitesi ve testiküler histopatoloji üzerindeki etkileri değerlendirilmiştir. Aquaporinler, spermatozoaların osmoregülasyonu, hareketliliği ve dondurma-çözdürme toleransı gibi kritik fizyolojik süreçlerdeki rolleriyle bilinmektedir (Delgado-Bermudez ve ark., 2022; Pequeno ve ark., 2023). Kurkumin, güçlü antioksidan ve anti-inflamatuar özellikleriyle bilinen polifenolik bir bileşiktir (Priyadarsini, 2014; Sharifi-Rad ve ark., 2020; Verkman, 2013). Kurkuminin spermatozoa metabolizması üzerine olan etki mekanizması henüz tam olarak aydınlatılmış değildir. Muhtemelen β -diketon, metoksi ve fenolik fonksiyonel grupları aracılığıyla serbest radikallerin tutulması/temizlenmesi sayesinde sperm fonksiyonlarını iyileştirmektedir (Kim ve ark., 2019; Shahedi ve ark., 2021). Çalışmanın bulguları, kurkuminin etkilerinin sanıldığı kadar basit bir etki göstermediğini, farklı dozlarda karmaşık sonuçlara sebep olabileceğini desteklemektedir. Bu bulgular, kurkuminin potansiyel terapötik uygulamaları için optimal dozajın dikkatli bir şekilde belirlenmesinin önemini ortaya koymuştur.

Bulgular, düşük doz kurkumin uygulanan sıçanların (100 mg/kg) canlı ağırlıklarının (265.57 ± 17.31 g), kontrol (340.33 ± 4.60 g), orta (333.57 ± 9.11 g) ve yüksek (344.28 ± 8.82 g) doz gruplarına kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük olduğunu göstermiştir ($p < 0.001$). Kontrol, orta ve yüksek doz grupları arasında canlı ağırlık açısından anlamlı bir fark gözlenmemiştir.

Testis ağırlıklarında ise, düşük doz grubunun testis ağırlığı (2.85 ± 0.15 g) yüksek doz grubuna (3.26 ± 0.10 g) göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur ($p < 0.001$). Kontrol (3.14 ± 0.06 g) ve orta doz (3.16 ± 0.08 g) gruplarının testis ağırlıkları, düşük doz

ve yüksek doz grupları arasında istatistiksel olarak farklılık göstermemektedir.

Kurkuminin vücut ağırlığı üzerinde olumsuz bir etkisi olduğuna dair literatürde herhangi bir bulgu bulunmamakla birlikte, bu çalışmada düşük doz kurkuminin canlı ağırlıkta anlamlı düşüğe neden olduğu gözlenmiştir. Bir çalışmada, morfinle tedavi edilen sıçanlarda 10, 30 ve 60 mg/kg gibi daha düşük kurkumin dozlarının testis ağırlığını artırdığı bildirilmiştir (Roshankhah ve ark., 2017). Bu sonuç, düşük dozlarda kurkuminin metabolik veya sistemik etkilerinin henüz tam olarak anlaşılmadığını göstermektedir. Dolayısıyla, kurkuminin biyoyararlanımı, metabolik yolları veya düşük konsantrasyonlarda genel fizyolojik dengeyi bozabilecek ince inhibitör etkileri hakkında daha fazla araştırma yapılmasını gerektirmektedir.

Kurkumin uygulamasının spermatolojik parametreler üzerindeki etkileri, doza bağlı olarak karmaşık ve çok yönlü bir tablo ortaya koymuştur. Çalışmada, tüm kurkumin uygulanan grupların sperm motilitesi, düşük dozda 37.85 ± 4.20 , orta dozda 67.14 ± 3.75 ve yüksek dozda 65.71 ± 2.54 olarak ölçülmüş; kontrol grubunun ise 77.50 ± 2.14 olduğu gözlenmiştir. Bu farklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0.001$). En düşük motilite oranı düşük doz grubunda kaydedilmiştir.

Literatürde birçok çalışma, kurkuminin sperm motilitesini iyileştirici etkilerini bildirmektedir; ancak bu çalışmada düşük doz kurkumin motilitede azalmaya neden olmuştur. Örneğin, diyabetik sıçanlarda 10 mg/kg kurkuminin motiliteyi artırdığı, kriyoprezervasyona tabi tutulmuş insan spermlerinde 20 μ M kurkuminin progresif motiliteyi yükselttiği gösterilmiştir (Santonastaso ve ark., 2021). Bazı çalışmalar, yüksek doz kurkuminin sperm motilitesi ve canlılığı üzerinde olumsuz etkiler gösterebileceğini ve hatta antifertilite özellikleri olabileceğini rapor etmektedir, bu bulgular bazı yönlerden çalışmamızla paralellik göstermektedir (Mishra ve ark., 2018; Nora ve ark., 2022). Kriyoprezervasyon işlemi sırasında artan reaktif oksijen türleri (ROS) üretiminin memeli

spermatozoasında hasara yol açabileceği bilinmektedir. Kurkumin ise etkili bir antioksidan olarak oksidatif strese karşı koruyucu rol oynamaktadır. Yapılan bir çalışmada, yetişkin sıçan spermatozoaları kurkumin (2.5 mM) ile desteklenen dondurma-çözme işlemine tabi tutulmuş ve bu grupta spermatozoa sayısı, hareketliliği, canlılığı ile DNA bütünlüğünün kontrol grubuna göre anlamlı şekilde korunduğu, ayrıca toplam antioksidan kapasitenin (TAC) da korunduğu saptanmıştır (p <0.05). Bu sonuçlar, kurkumin ilavesinin kriyoprezervasyonun sperm parametreleri üzerindeki olumsuz etkilerini azaltabileceğini göstermektedir (Soleimanzadeh & Saberivand, 2013). Kurkuminin etkileri doza bağımlıdır ve bir bağlamda (indüklenmiş hasarı hafifletme) faydalı olan bir dozaj, başka bir bağlamda (temel fonksiyonu iyileştirme) aynı etkiyi göstermeyebilir (Gupta ve ark., 2013). Ayrıca, kurkuminin bifazik doğası da bu gözlemi açıklayabilir; görünüşte düşük dozların bile motilite gibi karmaşık hücresel süreçleri olumsuz etkileyen inhibitör yolları veya pro-oksidan etkileri tetikleyebileceği düşünülmektedir (Wolnicka-Glubisz & Wisniewska-Becker, 2023). Bu sonuç, kurkuminin sperm motilitesi üzerindeki etkisinin bağlama ve doza son derece bağımlı olduğunu ve genelleştirilmiş bir fayda varsayımından kaçınılması gerektiğini işaret etmektedir.

Plazma membran hasar oranı açısından yüksek doz grup (1500 mg/kg), 21.14 ± 1.18 ile en yüksek hasar oranına sahip olup kontrol (11.00 ± 1.03), düşük (17.00 ± 1.27) ve orta (12.00 ± 0.81) doz gruplarından istatistiksel olarak anlamlı şekilde farklı bulunmuştur (p < 0.001). Düşük doz grubu plazma membran hasarı oranı da kontrol ve orta doz gruplarına kıyasla anlamlı derecede daha yüksektir. Kontrol grubu ile orta doz grubu arasında anlamlı fark saptanmamıştır.

Sperm plazma membran bütünlüğü, spermatozoon canlılığı, hareketliliği, kapasitasyonu ve dölleme başarısı için hayati öneme sahiptir. Oksidatif stres; özellikle

lipid peroksidasyonu yoluyla, membran hasarının başlıca nedenlerinden biridir (Du ve ark., 2024; Kaltsas, 2023; Wang ve ark., 2025). Kurkuminin güçlü antioksidan etkisi sayesinde hücre zarlarını oksidatif hasardan koruduğu bilinmektedir (Priyadarsini, 2014; Sharifi-Rad ve ark., 2020). Düşük ve yüksek doz kurkumin uygulanan gruplarda membran bütünlüğünde gözlenen hasar artışı, kurkuminin antioksidan kapasitesinin doza bağlı olarak değişkenlik gösterebileceğini ortaya koymaktadır. Yüksek doz grubunda kurkuminin koruyucu etkisinin sınırlı kalmış olabileceği ya da bazı pro-oksidan mekanizmaların devreye girmiş olabileceği düşünülmektedir. Buna karşılık orta doz uygulamasında zar bütünlüğünün kontrol grubuna yakın seviyelerde korunması, kurkuminin oksidatif stresi azaltmada etkili bir doz aralığının bulunduğunu gösteriyor.

Düşük doz grubundaki yüksek zar hasarı, kurkuminin doz-yanıt ilişkisinin doğrusal olmadığına dair bir göstergedir. Bu durum, suboptimal dozlarda yetersiz biyoyararlanım ve sınırlı antioksidan etki ile ilişkili olabilir. Elde edilen bulgular, kurkuminin spermatozoaların plazma zarını koruma kapasitesinin doza bağlı olduğunu ve hem düşük hem de yüksek dozların, optimal aralığın dışında kaldığında zar hasarını artırabileceğini göstermektedir. Düşük doz grubundaki beklenmedik etkilerin, bu gruptaki gerçek testiküler konsantrasyonun tahmin edilenden farklı olmasından kaynaklanmış olması muhtemeldir.

Anormal spermatozoon oranı, yüksek doz grubunda (9.42 ± 0.89), kontrol (7.00 ± 0.44), düşük (6.71 ± 0.71) ve orta (5.28 ± 0.42) doz gruplarına kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek bulunmuştur ($p < 0.001$). Kontrol, düşük ve orta doz grupları arasında anormal spermatozoon oranı açısından anlamlı bir fark saptanmamıştır. Spermatozoa morfolojisi; baş, orta parça ve kuyruk yapılarını içeren bir parametre olup progresif motilite ve oosit penetrasyonu açısından kritik öneme sahiptir. Toksik ajanlar, ağır metaller ve tütün kullanımı gibi çevresel etkenlerin morfolojik

anomalilere yol açtığı literatürde yaygın olarak bildirilmiştir. Kurkuminin sperm morfolojisi üzerine olumlu etkilerini raporlayan çalışmaların yanı sıra, anomali oranlarında artış bildiren çalışmalar da mevcuttur (Fanoudi ve ark., 2024; Shaw ve ark., 2025). Bu çalışmada, anormal sperm oranında yalnızca yüksek doz grubunda kontrol grubuna kıyasla anlamlı bir artış gözlenmiştir. Bu durum, sperm motilitesi ve plazma membran bütünlüğü gibi daha hızlı değişebilen parametrelerin düşük dozlardan etkilenmesine karşın, morfolojik değişikliklerin ortaya çıkması için daha yüksek şiddette ya da uzun süreli dozların kullanılması gerektiğini düşündürmektedir. Bu nedenle morfolojik parametrelerin, kurkuminin olası zararlı etkilerine karşı daha dirençli olduğu söylenebilir. Ayrıca orta doz grubunda anormal morfoloji oranının kontrol grubuna göre sayısal olarak daha düşük olması (istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte), kurkuminin bu düzeyde hafif koruyucu bir etki gösterebileceğini işaret etmektedir. Bu bulgu, kurkuminin antioksidan ve anti-apoptotik özellikleriyle uyumludur.

Çalışmanın en belirleyici bulgularından biri spermatozoonun DNA fragmentasyonundaki doz-yanıt ilişkisidir. Orta doz (500 mg/kg) kurkumin, DNA fragmentasyon oranını kontrol (15.16 ± 1.27), düşük (25.85 ± 0.91) ve yüksek (37.14 ± 0.91) doz gruplarına kıyasla anlamlı derecede azaltmıştır (8.57 ± 0.64 ; $p < 0.001$). Düşük doz grubundaki DNA fragmentasyon seviyesi, kontrol ve orta doz gruplarının üzerinde, ancak yüksek doz grubunun altında olduğu görülmüştür. En yüksek fragmentasyon oranı ise yüksek doz grubunda gözlemlenmiştir. Bu doz-yanıt ilişkisi, kurkuminin söz konusu koruyucu etkisinin non-lineer ve biphazik bir profil sergilediğine işaret etmektedir. Sperm DNA fragmentasyonu fertilité başarısı ve embriyonik gelişim açısından kritik bir belirteç olup; oksidatif stresin sperm DNA hasarındaki başlıca mekanizma olduğu literatürde geniş kabul görmektedir. Elde edilen bulgular, orta doz kurkuminin oksidatif DNA hasarını azaltma potansiyelini desteklerken, yüksek dozun

pro-oksidan veya başka toksik etkilere yol açabileceğini düşündürmektedir (Mansouri-Bahrani ve ark., 2025; Santonastaso ve ark., 2021; Tas ve ark., 2023). Orta dozda (500 mg/kg) DNA fragmentasyonunda gözlenen net ve anlamlı azalma, kurkuminin bifazik bir etkiye sahip olduğuna dair güçlü kanıtlar sunmaktadır. Orta dozda gözlenen bu koruyucu etki, kurkuminin reaktif oksijen türlerini etkili bir şekilde temizleme ve hücrel antioksidan savunmayı güçlendirme yeteneğiyle tutarlıdır (Sharifi-Rad ve ark., 2020). Bununla birlikte, düşük dozda DNA fragmentasyon oranının kontrol grubuna göre artması ve yüksek dozda artmış fragmentasyon gözlenmesi, suboptimal veya aşırı dozlarda kurkuminin etkinliğinin sınırlı olabileceğini veya bazı pro-oksidan etkiler gösterebileceğini düşündürmektedir. Ancak, aşırı yüksek konsantrasyonlarda kurkuminin pro-oksidan etkileri ön plana çıkabilir; bu durum DNA hasarına yol açan alternatif hücrel stres mekanizmalarını tetikleyebilir. Bu nedenle, erkek üreme sağlığı bağlamında hem güvenli hem de terapötik açıdan etkili bir dozaj aralığının titizlikle belirlenmesi büyük önem taşımaktadır.

Western blot bulguları, kurkumin verilen sıçan grupları arasında AQP3 ve AQP7 protein ekspresyonlarının doz-bağımlı ve istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar gösterdiğini ortaya koymuştur. Bu durum karmaşık bir düzenleyici yanıtın varlığına işaret etmektedir. Özellikle AQP3 ekspresyonu doza bağlı olarak belirgin artış sergilemiştir: kontrol ile düşük doz grupları benzer düzeylerde iken, orta ve yüksek doz gruplarında bu seviyeler anlamlı olarak yükselmiştir; en yüksek ekspresyon yüksek doz grubunda saptanmıştır. AQP7 ekspresyonunda da doz-bağımlı değişimler gözlenmiş olmakla birlikte, AQP3'teki artışla karşılaştırıldığında düzenlenme paterni daha karmaşık görünmektedir.

AQP3'ün akuagliseroprin ailesine ait olduğu; su, gliserol ve hidrojen peroksit (H_2O_2) taşınımını kolaylaştırdığı ve hücrel hacim regülasyonu ile oksidatif strese yanıt

mekanizmalarında kritik rol oynadığı bilinmektedir. Elde edilen veriler, kurkuminin dozuna bağlı olarak aquaporin ekspresyonunu modüle ederek hücrel su-iyon homeostazı ve oksidatif denge üzerine etkide bulunabileceğini göstermektedir. Mekanistik çıkarımların doğrulanması için ilave fonksiyonel ve biyokimyasal analizler (ör. hücre içi H₂O₂ ölçümleri, lipid peroksidasyon, sinyal yollarına yönelik deneyler) önerilmektedir (Azad ve ark., 2021; Zhu ve ark., 2023). AQP3 eksikliğinin spermatozoaların osmoadaptasyonunu ve migrasyonunu bozduğu bildirilmiştir (Chen & Duan, 2011). Bazı literatürler, kurkuminin belirli hücre tiplerinde AQP3 ekspresyonunu azaltabileceğini öne sürmektedir; bu çalışmada ise orta ve yüksek dozlarda yukarı regülasyon gözlenmiştir (Bailey & Westhoff, 2019; Bhattacharjee ve ark., 2024; Ji ve ark., 2008; Pellavio ve ark., 2017). AQP3 ekspresyonunda, özellikle orta ve yüksek doz kurkumin uygulamalarında gözlenen artış, kurkuminin hücrel fizyoloji üzerindeki etkilerine dair dikkat çekici bulgular sunmaktadır. Bu yukarı yönlü düzenlenme, özellikle yüksek dozlarda gözlenen oksidatif stres ve membran hasarı gibi hücrel stres etkenlerine karşı testiküler ve sperm hücreleri tarafından geliştirilen bir kompensatuar (telafi edici) yanıt olarak değerlendirilebilir.

Yüksek doz grubunda artan AQP3 ekspresyonunun, belirgin membran hasarı ve DNA fragmentasyonu ile birlikte görülmesi, bu kompensatuar yanıt hipotezini daha da güçlendirmektedir. Hücrelerin, yüksek doz kurkuminin zararlı etkileriyle başa çıkmak amacıyla AQP3 düzeyini artırdığı yönündeki bu yorum, kurkuminin doza bağlı karmaşık biyolojik etkilerini anlamada önemli bir ipucu sunmaktadır. Bu sonuçlar, kurkuminin artan dozlarla birlikte AQP3 ekspresyonunu önemli ölçüde uyardığını göstermektedir (Ji ve ark., 2008; Pellavio ve ark., 2017; Tesse ve ark., 2018).

AQP7 ekspresyonu daha karmaşık, doğrusal olmayan bir model sergilemiştir. Düşük doz kurkumin (100 mg/kg), AQP7 ekspresyonunu diğer tüm gruplara göre anlamlı

derecede artırmıştır. Buna karşılık, yüksek doz (1500 mg/kg) en düşük AQP7 ekspresyonuna neden olmuş ve düşük dozdan anlamlı derecede düşük bulunmuştur. Kontrol ve orta dozlar birbirine benzer AQP7 seviyeleri göstermiştir. AQP7, sperm osmoregülasyonu, motilitesi ve sperm enerji metabolizması için gerekli olan gliserol taşınımında hayati bir rol oynayan başka bir akuagliseroporindir. Ekspresyonu ayrıca sperm kriyotoleransı ile de ilişkilidir (Delgado-Bermudez ve ark., 2022; Ribeiro ve ark., 2023). AQP7 sonuçları özellikle karmaşıktır ve nüanslı bir düzenleyici modeli ortaya koymaktadır. Düşük dozda AQP7 ekspresyonunda gözlenen anlamlı artış önemli bir gözlemdir. Bu durum teorik olarak düşük ve potansiyel olarak faydalı bir dozda kurkuminin AQP7 aracılı gliserol taşınımını artırarak sperm enerji metabolizmasını ve motilitesini desteklediğini düşündürebilir. AQP7'nin bilinen sperm fonksiyonunu sürdürme rolüyle uyumludur (Delgado-Bermudez ve ark., 2022; Ribeiro ve ark., 2023). Burada doğrudan bir çelişki ortaya çıkmaktadır; çalışmanın sperm motilitesi bulguları, tam da bu düşük dozda (%37.85) bir azalma göstermiştir. Bu tutarsızlık, AQP7 ekspresyonu yukarı regüle edilmiş olsa da sperm motilitesi için diğer kritik faktörlerin (örneğin, flagellar bütünlüğü, ATP kullanım verimliliği veya diğer sinyal yolları) düşük doz kurkumin tarafından olumsuz etkilenebileceğini ve böylece AQP7'deki artıştan kaynaklanabilecek potansiyel faydayı geçersiz kılabileceğini düşündürmektedir. Alternatif olarak, düşük dozda artan AQP7 ekspresyonunun kendisi zararlı bir etki olabilir, aşırı gliserol çıkışına veya su girişine yol açarak normal ozmotik dengeyi bozabilir ve dolayısıyla motiliteyi bozabilir. Buna bağlı olarak, tek bir proteinin ekspresyonundaki değişikliklerin, biyolojik sistemlerin karmaşıklığı nedeniyle, her zaman doğrusal veya öngörülebilir bir şekilde genel fonksiyonel sonuçlara dönüşmediğini vurgulamaktadır. Yüksek dozda AQP7'deki azalma, şiddetli sperm hasarı ile birlikte, yüksek kurkumin konsantrasyonlarının AQP7'nin normal düzenleyici

mekanizmalarını bozduğunu, hücrel disfonksiyona önemli ölçüde katkıda bulunduğunu ve potansiyel olarak temel gliserol taşınımını ve osmoregülasyonu bozduğunu düşündürmektedir.

Testis dokusunun histopatolojik incelemesi, kurkuminin farklı dozlarının testiküler yapılar üzerindeki etkilerine dair önemli veriler sunmuştur. Kontrol, düşük doz (100 mg/kg) ve orta doz (500 mg/kg) gruplarında, testiküler histo-morfolojinin büyük ölçüde korunduğu gözlemlenmiştir. Bu gruplarda seminifer tübüller düzgün şekilli, bazal membran belirgin, germinal hücreler fizyolojik dizilimde olup tübül lümenlerinde bol miktarda spermatozoon mevcuttur.

Yüksek doz grubunda (1500 mg/kg) ise belirgin histopatolojik bozulmalar saptanmıştır. Seminifer tübül epitelinde hücrel dizilimin bozulduğu, germ hücrelerinin lümenine döküldüğü, epitel yüksekliğinin azaldığı ve hücre çekirdeklerinde piknoz gibi dejeneratif değişikliklerin görüldüğü bildirilmiştir. Ayrıca, bazı tübüllerde koagülatif nekrozu düşündürülen, yapısal bütünlüğü kaybolmuş hücre kitlelerinin tübül lümenini doldurduğu gözlemlenmiştir. Bu ciddi değişiklikler, yüksek gruba ait histopatolojik skorların anlamlı düzeyde yüksek olmasına neden olmuştur. Histopatolojik değerlendirme; germ hücre dejenerasyonu, tübüler atrofi ve inflamasyon gibi yaygın testiküler hasarların tespitinde oldukça duyarlı bir yöntemdir. Mallory'nin üçlü boyama tekniği, bağ dokusu ve hücrel yapıların detaylı bir şekilde gözlemlenmesini kolaylaştırmıştır.

Histopatolojik bulgular, 1500 mg/kg kurkumin dozunun açık bir testiküler toksisite eşiği olduğunu ortaya koymaktadır. Fonksiyonel parametreler (motilite, membran bütünlüğü, DNA hasarı) daha düşük dozlarda etkilenmiş olsa da testiküler yapı orta doza kadar histolojik olarak büyük ölçüde korunmuştur. Bu bulgular, kurkuminin sperm kalitesi üzerindeki erken olumsuz etkilerinin öncelikle moleküler ve fonksiyonel

düzyede ortaya çıktığını, histolojik düzeydeki hasarın daha yüksek dozlarda belirginleştiğine işaret etmektedir.

Yüksek doz grubunda tespit edilen belirgin histopatolojik değışimler, aynı gruptaki spermatolojik parametrelerde kaydedilen ciddi bozulmalarla paraleldir. Bu bulgular, söz konusu doz seviyesinin erkek üreme sistemi üzerinde belirgin bir toksik etki oluşturduğuna işaret etmekte ve mevcut verileri kuvvetle desteklemektedir.

Sprague Dawley sıçan modelinin kullanımı, üreme toksikolojisi alanında yaygın kabul gören ve fizyolojik açıdan iyi karakterize edilmiş bir deneysel yöntemdir. Kurkuminin oral yoldan uygulanması insanda takviye kullanımını yansıtan translasyonel bir geçerlilik sağlamıştır. Araştırmada benimsenen çok boyutlu analitik yaklaşım kurkuminin erkek üreme sağlığı üzerindeki olası etkilerinin bütüncül bir şekilde değerlendirilmesine olanak tanımıştır. Özellikle Western blot aracılığıyla aquaporin gibi hedef proteinlerin yarı-kantitatif tayini mümkün olmuş; stain-free normalizasyon yönteminin kullanımı veri güvenilirliğini ve tekrarlanabilirliği artırmıştır. Histopatolojik incelemelerde Mallory'nin üçlü boyama yöntemi ve Cosentino skorlama sisteminin tercih edilmesi sayesinde testiküler doku bütünlüğünün ayrıntılı ve objektif biçimde değerlendirilebilmesi yapılmıştır. Bununla birlikte, bazı metodolojik sınırlılıklar bulunmaktadır. Kurkuminin in vivo biyoyararlanımının sınırlı olduğu bilinmektedir. Çözünürlüğü artırmak amacıyla taşıyıcı olarak Tween 80 kullanılmış olsa da sistemik veya testiküler düzeylerdeki gerçek kurkumin konsantrasyonları doğrudan ölçülmemiştir.

Öte yandan, literatürde AQP3'ün sıçan sperminde tespit edilmesinde bazı zorluklar bildirildiği halde (Chen & Duan, 2011), bu çalışmada Western Blot analizi ile AQP3 ekspresyonu başarıyla doğrulanmıştır. Ancak AQP3 ve AQP7'nin sıçan spermatozoası içerisindeki subhüresel lokalizasyonları bu çalışmada ayrıntılı olarak incelenmemiştir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu tez çalışmasında, kurkuminin Sprague Dawley sıçanlarında erkek üreme sistemi üzerindeki doza bağlı etkileri; sperm kalitesi, DNA bütünlüğü, testiküler histopatoloji ile AQP3 ve AQP7 proteinlerinin ekspresyon düzeyleri üzerinden değerlendirilmiştir. Genel olarak, çalışma giriş bölümünde tanımlanan araştırma amacına ulaşmıştır.

Elde edilen bulgular, kurkuminin etkilerinin doza bağlı olarak farklılık gösterdiğini ve bu etkinin doğrusal bir yapı göstermediğini ortaya koymaktadır. Kurkumin, belirli dozlarda koruyucu etki sergilerken, düşük ve yüksek dozlarda sperm fonksiyonları üzerinde olumsuz etkiler oluşturmuştur. Özellikle sperm motilitesi, plazma membran bütünlüğü ve DNA fragmantasyonu parametrelerinde düşük ve yüksek dozların zararlı etkileri gözlenmiş, buna karşın orta dozun DNA bütünlüğü üzerinde koruyucu rol oynadığı belirlenmiştir. Bu sonuçlar, literatürde kurkuminin genellikle antioksidan ve koruyucu bir ajan olarak tanımlanmasına rağmen, bu etkinin her doz düzeyinde geçerli olmadığını göstermektedir. Ayrıca, kurkuminin potansiyel pro-oksidan etkilerinin de göz önünde bulundurulması gerektiği anlaşılmaktadır.

Moleküler düzeyde, AQP3 protein ekspresyonunun doza bağlı olarak artış göstermesi, yüksek doz kurkuminin hücrel stres yanıtını tetikleyebileceğini düşündürmektedir. AQP7 ekspresyonundaki düşük dozda artış ve yüksek dozda azalma ise, bu proteinin kurkuminle ilişkili düzenlenmesinin daha karmaşık bir modele sahip olduğunu işaret etmektedir. Histopatolojik olarak, yalnızca yüksek doz grubunda belirgin doku bozulmalarının gözlenmesi, kurkuminin zararlı etkilerinin öncelikle hücrel düzeyde başladığını, doku hasarının daha yüksek dozlarda ortaya çıktığını göstermektedir.

Son olarak, ileri çalışmalar için AQP3 ve AQP7'nin spermatozoadaki sub-hücrel

lokalisasyonunun immünohistokimyasal yöntemlerle belirlenmesi ve bu proteinlerin kurkumin uygulaması bağlamındaki işlevsel rollerinin ayrıntılı şekilde değerlendirilmesi önerilmektedir.



KAYNAKLAR

- Abdollahi, F., Amanpour, S., Muhammadnajad, A., Barzegar, F., & Dehghan, S. F. (2023). Testicular histopathology in rats co-exposed to heat and psychological stressors. *Heliyon*, 9(3), e14146. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e14146>
- Aggarwal, B. B., & Sung, B. (2009). Pharmacological basis for the role of curcumin in chronic diseases: an age-old spice with modern targets. *Trends in Pharmacological Sciences*, 30(2), 85-94. <https://doi.org/10.1016/j.tips.2008.11.002>
- Agre, P. (2006). The aquaporin water channels. *Proceedings of the American Thoracic Society*, 3(1), 5-13. <https://doi.org/10.1513/pats.200510-109JH>
- Akarsu, S. A., Gur, C., Ileriturk, M., Akaras, N., Kucukler, S., & Kandemir, F. M. (2023). Effect of syringic acid on oxidative stress, autophagy, apoptosis, inflammation pathways against testicular damage induced by lead acetate. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 80, 127315. <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2023.127315>
- Alyasin, A., Momeni, H. R., & Mahdieh, M. (2020). Aquaporin3 expression and the potential role of aquaporins in motility and mitochondrial membrane potential in human spermatozoa. *Andrologia*, 52(6), e13588. <https://doi.org/10.1111/and.13588>
- Amaroli, A., Panfoli, I., Bozzo, M., Ferrando, S., Candiani, S., & Ravera, S. (2024). The Bright Side of Curcumin: A Narrative Review of Its Therapeutic Potential in Cancer Management. *Cancers (Basel)*, 16(14), 2580. <https://doi.org/10.3390/cancers16142580>

- Aniebo Umoh, E. (2024). Spermatogenesis. In W. Wu (Ed.), *Andrology Insights - Understanding Male Reproductive Health and Diseases*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.1007771>
- Araujo, C. C., & Leon, L. L. (2001). Biological activities of *Curcuma longa* L. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 96(5), 723-728. <https://doi.org/10.1590/s0074-02762001000500026>
- Asadi, A., Ghahremani, R., Abdolmaleki, A., & Rajaei, F. (2021). Role of sperm apoptosis and oxidative stress in male infertility: A narrative review. *International journal of reproductive biomedicine*, 19(6), 493-504. <https://doi.org/10.18502/ijrm.v19i6.9371>
- Ayad, B., Omolaoye, T. S., Louw, N., Ramsunder, Y., Skosana, B. T., Oyeipo, P. I., & Du Plessis, S. S. (2022). Oxidative Stress and Male Infertility: Evidence From a Research Perspective. *Frontiers in reproductive health*, 4, 822257. <https://doi.org/10.3389/frph.2022.822257>
- Azad, A. K., Raihan, T., Ahmed, J., Hakim, A., Emon, T. H., & Chowdhury, P. A. (2021). Human Aquaporins: Functional Diversity and Potential Roles in Infectious and Non-infectious Diseases. *Frontiers in Genetics*, 12, 654865. <https://doi.org/10.3389/fgene.2021.654865>
- Azenabor, A., Ekun, A. O., & Akinloye, O. (2015). Impact of Inflammation on Male Reproductive Tract. *Journal of reproduction & infertility*, 16(3), 123-129. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26913230>
- Bailey, D. J., & Westhoff, C. M. (2019). Other Blood Group Systems, Collections, and Series. In B. H. Shaz, C. D. Hillyer, & M. Reyes Gil (Eds.), *Transfusion Medicine and Hemostasis* (pp. 177-184). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-813726-0.00030-1>

- Bhatt, H. D., McClain, S. A., Lee, H. M., Zimmerman, T., Deng, J., Johnson, F., Gu, Y., & Golub, L. M. (2022). The Maximum-Tolerated Dose and Pharmacokinetics of a Novel Chemically Modified Curcumin in Rats. *Journal of Experimental Pharmacology*, *14*, 73-85. <https://doi.org/10.2147/JEP.S341927>
- Bhattacharjee, A., Jana, A., Bhattacharjee, S., Mitra, S., De, S., Alghamdi, B. S., Alam, M. Z., Mahmoud, A. B., Al Shareef, Z., Abdel-Rahman, W. M., Woon-Khiong, C., Alexiou, A., Papadakis, M., & Ashraf, G. M. (2024). The role of Aquaporins in tumorigenesis: implications for therapeutic development. *Cell Commun Signal*, *22*(1), 106. <https://doi.org/10.1186/s12964-023-01459-9>
- Bonilla-Correal, S., Noto, F., Garcia-Bonavila, E., Rodriguez-Gil, J. E., Yeste, M., & Miro, J. (2017). First evidence for the presence of aquaporins in stallion sperm. *Reproduction in Domestic Animals*, *52* Suppl 4, 61-64. <https://doi.org/10.1111/rda.13059>
- Calamita, G., Mazzone, A., Bizzoca, A., & Svelto, M. (2001). Possible involvement of aquaporin-7 and -8 in rat testis development and spermatogenesis. *Biochem Biophys Res Commun*, *288*(3), 619-625. <https://doi.org/10.1006/bbrc.2001.5810>
- Calamita, G., Mazzone, A., Cho, Y. S., Valenti, G., & Svelto, M. (2001). Expression and localization of the aquaporin-8 water channel in rat testis. *Biology of Reproduction* *64*(6), 1660-1666. <https://doi.org/10.1095/biolreprod64.6.1660>
- Cao, W., Gerton, G. L., & Moss, S. B. (2006). Proteomic profiling of accessory structures from the mouse sperm flagellum. *Molecular & Cellular Proteomics* *5*(5), 801-810. <https://doi.org/10.1074/mcp.M500322-MCP200>
- Chemes, H. E., & Alvarez Sedo, C. (2012). Tales of the tail and sperm head aches: changing concepts on the prognostic significance of sperm pathologies affecting

- the head, neck and tail. *Asian Journal of Andrology*, 14(1), 14-23.
<https://doi.org/10.1038/aja.2011.168>
- Chen, Q., & Duan, E. K. (2011). Aquaporins in sperm osmoadaptation: an emerging role for volume regulation. *Acta Pharmacologica Sinica*, 32(6), 721-724.
<https://doi.org/10.1038/aps.2011.35>
- Chen, Q., Peng, H., Lei, L., Zhang, Y., Kuang, H., Cao, Y., Shi, Q. X., Ma, T., & Duan, E. (2011). Aquaporin3 is a sperm water channel essential for postcopulatory sperm osmoadaptation and migration. *Cell Research*, 21(6), 922-933.
<https://doi.org/10.1038/cr.2010.169>
- Chen, Z., Jiao, S., Zhao, D., Zou, Q., Xu, L., Zhang, L., & Su, X. (2022). The Characterization of Structure and Prediction for Aquaporin in Tumour Progression by Machine Learning. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 10, 845622. <https://doi.org/10.3389/fcell.2022.845622>
- Cosentino, M. J., Nishida, M., Rabinowitz, R., & Cockett, A. T. (1985). Histological changes occurring in the contralateral testes of prepubertal rats subjected to various durations of unilateral spermatic cord torsion. *The Journal of urology*, 133(5), 906-911. [https://doi.org/10.1016/s0022-5347\(17\)49278-0](https://doi.org/10.1016/s0022-5347(17)49278-0)
- Cozmin, M., Lungu, II, Gutu, C., Stefanache, A., Duceac, L. D., Soltuzu, B. D., Damir, D., Calin, G., Bogdan Goroftei, E. R., Grierosu, C., & Boev, M. (2024). Turmeric: from spice to cure. A review of the anti-cancer, radioprotective and anti-inflammatory effects of turmeric sourced compounds. *Frontiers in Nutrition*, 11, 1399888. <https://doi.org/10.3389/fnut.2024.1399888>
- Delgado-Bermudez, A., Recuero, S., Lllavanera, M., Mateo-Otero, Y., Sandu, A., Barranco, I., Ribas-Maynou, J., & Yeste, M. (2021). Aquaporins Are Essential to Maintain Motility and Membrane Lipid Architecture During Mammalian Sperm

- Capacitation. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 9, 656438.
<https://doi.org/10.3389/fcell.2021.656438>
- Delgado-Bermudez, A., Ribas-Maynou, J., & Yeste, M. (2022). Relevance of Aquaporins for Gamete Function and Cryopreservation. *Animals (Basel)*, 12(5), 573.
<https://doi.org/10.3390/ani12050573>
- Diao, L., Turek, P. J., John, C. M., Fang, F., & Reijo Pera, R. A. (2022). Roles of Spermatogonial Stem Cells in Spermatogenesis and Fertility Restoration. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 13, 895528. <https://doi.org/10.3389/fendo.2022.895528>
- Du, C., Yu, Y., & Fan, X. (2024). Analysis of research trends (2014-2023) on oxidative stress and male fertility based on bibliometrics and knowledge graphs. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 15, 1326402.
<https://doi.org/10.3389/fendo.2024.1326402>
- Erbas, E., Gelen, V., Kara, H., Gedikli, S., Yesildag, A., Ozkanlar, S., & Akarsu, S. A. (2024). Silver Nanoparticles Loaded with Oleuropein Reduce Doxorubicin-Induced Testicular Damage by Regulating Endoplasmic Reticulum Stress, and Apoptosis. *Biological Trace Element Research* 202(10), 4687-4698.
<https://doi.org/10.1007/s12011-024-04058-y>
- Esteves, S. C., & Humaidan, P. (2025). The role of luteinizing hormone activity in spermatogenesis: from physiology to clinical practice. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 23(Suppl 1), 6. <https://doi.org/10.1186/s12958-024-01333-4>
- Fanoudi, S., Alavi, M. S., Mehri, S., & Hosseinzadeh, H. (2024). The protective effects of curcumin against cigarette smoke-induced toxicity: A comprehensive review. *Phytotherapy Research*, 38(1), 98-116. <https://doi.org/10.1002/ptr.8035>

- Fomichova, O., Oliveira, P. F., & Bernardino, R. L. (2025). Exploring the interplay between inflammation and male fertility. *Federation of European Biochemical Societies*, 292(13), 3321-3349. <https://doi.org/10.1111/febs.17366>
- Fujii, T., Hirayama, H., Fukuda, S., Kageyama, S., Naito, A., Yoshino, H., Moriyasu, S., Yamazaki, T., Sakamoto, K., Hayakawa, H., Takahashi, K., Takahashi, Y., & Sawai, K. (2018). Expression and localization of aquaporins 3 and 7 in bull spermatozoa and their relevance to sperm motility after cryopreservation. *Journal of Reproduction and Development*, 64(4), 327-335. <https://doi.org/10.1262/jrd.2017-166>
- Geng, X., Shao, G., Jiang, T., & Yang, B. (2023). Transport Characteristics of Aquaporins. In B. Yang (Ed.), *Aquaporins* (pp. 53-64). Springer Nature Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-19-7415-1_4
- Geyer, R. R., Musa-Aziz, R., Qin, X., & Boron, W. F. (2013). Relative CO₂/NH₃ selectivities of mammalian aquaporins 0-9. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, 304(10), C985-994. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00033.2013>
- Gonzalez-Reyes, S., Guzman-Beltran, S., Medina-Campos, O. N., & Pedraza-Chaverri, J. (2013). Curcumin pretreatment induces Nrf2 and an antioxidant response and prevents hemin-induced toxicity in primary cultures of cerebellar granule neurons of rats. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2013, 801418. <https://doi.org/10.1155/2013/801418>
- Gu, Y., Niu, Q., Zhang, Q., & Zhao, Y. (2024). Ameliorative Effects of Curcumin on Type 2 Diabetes Mellitus. *Molecules*, 29(12), 2934. <https://doi.org/10.3390/molecules29122934>
- Gunnink, L. K., Alabi, O. D., Kuiper, B. D., Gunnink, S. M., Schuiteman, S. J., Strohbehn, L. E., Hamilton, K. E., Wrobel, K. E., & Louters, L. L. (2016).

- Curcumin directly inhibits the transport activity of GLUT1. *Biochimie*, 125, 179-185. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2016.03.014>
- Gupta, S. C., Patchva, S., & Aggarwal, B. B. (2013). Therapeutic roles of curcumin: lessons learned from clinical trials. *American Association of Pharmaceutical Scientists* 15(1), 195-218. <https://doi.org/10.1208/s12248-012-9432-8>
- Gurung, P., Yetiskul, E., & Jialal, I. (2025). Physiology, Male Reproductive System. In *StatPearls*. StatPearls [Internet]. 2023, Statpearls publishing. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30860700>
- Guseva, E. A., Buev, V. S., Mirzaeva, S. E., Pletnev, P. I., Dontsova, O. A., & Sergiev, P. V. (2024). Structure and Composition of Spermatozoa Fibrous Sheath in Diverse Groups of Metazoa. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(14). <https://doi.org/10.3390/ijms25147663>
- Hall, J. E. (2021). *Guyton & Hall. Tratado de fisiología médica*. Elsevier Health Sciences.
- Hasanin, N. A., Sayed, N. M., Ghoneim, F. M., & Al-Sherief, S. A. (2018). Histological and ultrastructure study of the testes of acrylamide exposed adult male albino rat and evaluation of the possible protective effect of Vitamin E intake. *Journal of Microscopy and Ultrastructure*, 6(1), 23-34. https://doi.org/10.4103/JMAU.JMAU_7_18
- Hermo, L., Krzeczunowicz, D., & Ruz, R. (2004). Cell specificity of aquaporins 0, 3, and 10 expressed in the testis, efferent ducts, and epididymis of adult rats. *Journal of Andrology*, 25(4), 494-505. <https://doi.org/10.1002/j.1939-4640.2004.tb02820.x>
- Hong, Q., Lyu, W., Zhang, C., Yao, W., Han, Y., & Chen, N. (2025). Research trajectory and future trends in curcumin related to immunity: a bibliometric analysis of publications from last two decades. *Frontiers in Immunology*, 16, 1559670. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2025.1559670>

- Ikeda, M., Beitz, E., Kozono, D., Guggino, W. B., Agre, P., & Yasui, M. (2002). Characterization of aquaporin-6 as a nitrate channel in mammalian cells: requirement of pore-lining residue threonine 63. *Journal of Biological Chemistry*, 277(42), 39873-39879. <https://doi.org/10.1074/jbc.M207008200>
- Ishibashi, K., Kuwahara, M., Gu, Y., Kageyama, Y., Tohsaka, A., Suzuki, F., Marumo, F., & Sasaki, S. (1997). Cloning and functional expression of a new water channel abundantly expressed in the testis permeable to water, glycerol, and urea. *The Journal of Biological Chemistry*, 272(33), 20782-20786. <https://doi.org/10.1074/jbc.272.33.20782>
- Jakubczyk, K., Druzga, A., Katarzyna, J., & Skonieczna-Zydecka, K. (2020). Antioxidant Potential of Curcumin-A Meta-Analysis of Randomized Clinical Trials. *Antioxidants (Basel)*, 9(11), 1092. <https://doi.org/10.3390/antiox9111092>
- Ji, C., Cao, C., Lu, S., Kivlin, R., Amaral, A., Kouttab, N., Yang, H., Chu, W., Bi, Z., Di, W., & Wan, Y. (2008). Curcumin attenuates EGF-induced AQP3 up-regulation and cell migration in human ovarian cancer cells. *Cancer Chemother Pharmacol*, 62(5), 857-865. <https://doi.org/10.1007/s00280-007-0674-6>
- Kaltsas, A. (2023). Oxidative Stress and Male Infertility: The Protective Role of Antioxidants. *Medicina (Kaunas)*, 59(10), 1769. <https://doi.org/10.3390/medicina59101769>
- Kaur, K., Al-Khazaleh, A. K., Bhuyan, D. J., Li, F., & Li, C. G. (2024). A Review of Recent Curcumin Analogues and Their Antioxidant, Anti-Inflammatory, and Anticancer Activities. *Antioxidants (Basel)*, 13(9), 1092. <https://doi.org/10.3390/antiox13091092>
- Khezri, M. R., Ghasemnejad-Berenji, H., & Ghasemnejad-Berenji, M. (2023). Protective effects of empagliflozin on testicular injury induced by torsion/detorsion in adult

- male rats. *Journal of Pediatric Urology*, 19(5), 545 e541-545 e547.
<https://doi.org/10.1016/j.jpurol.2023.06.016>
- Kim, S. M., Kim, S. K., Jee, B. C., & Kim, S. H. (2019). Effect of Sperm DNA Fragmentation on Embryo Quality in Normal Responder Women in In Vitro Fertilization and Intracytoplasmic Sperm Injection. *Yonsei Medical Journal*, 60(5), 461-466. <https://doi.org/10.3349/ymj.2019.60.5.461>
- Kostereva, N., & Hofmann, M. C. (2008). Regulation of the spermatogonial stem cell niche. *Reproduction in Domestic Animals*, 43 Suppl 2(Suppl 2), 386-392.
<https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2008.01189.x>
- Kumar, B., Singh, V., Shankar, R., Kumar, K., & Rawal, R. K. (2017). Synthetic and Medicinal Prospective of Structurally Modified Curcumins. *Current topics in medicinal chemistry*, 17(2), 148-161.
<https://doi.org/10.2174/1568026616666160605050052>
- Kuzelova, L., Svoradova, A., Balazi, A., Vasicek, J., Langraf, V., Kolesarova, A., Slama, P., & Chrenek, P. (2024). Enhancing of Rabbit Sperm Cryopreservation with Antioxidants Mito-Tempo and Berberine. *Antioxidants (Basel)*, 13(11), 1360.
<https://doi.org/10.3390/antiox13111360>
- La, H. M., & Hobbs, R. M. (2019). Mechanisms regulating mammalian spermatogenesis and fertility recovery following germ cell depletion. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 76(20), 4071-4102. <https://doi.org/10.1007/s00018-019-03201-6>
- Laforenza, U., Pellavio, G., Marchetti, A. L., Omes, C., Todaro, F., & Gastaldi, G. (2016). Aquaporin-Mediated Water and Hydrogen Peroxide Transport Is Involved in Normal Human Spermatozoa Functioning. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(1), 66. <https://doi.org/10.3390/ijms18010066>

- Lei, T., Yang, Y., & Yang, W. X. (2025). Luteinizing Hormone Regulates Testosterone Production, Leydig Cell Proliferation, Differentiation, and Circadian Rhythm During Spermatogenesis. *International Journal of Molecular Sciences*, 26(8), 3548. <https://doi.org/10.3390/ijms26083548>
- Li, C., & Wang, W. (2014). Urea transport mediated by aquaporin water channel proteins. In *Urea Transporters* (pp. 227-265). Springer.
- Li, L., Lin, W., Wang, Z., Huang, R., Xia, H., Li, Z., Deng, J., Ye, T., Huang, Y., & Yang, Y. (2024). Hormone Regulation in Testicular Development and Function. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(11), 5805. <https://doi.org/10.3390/ijms25115805>
- Mansouri-Bahrani, B., Kutenae, M. A., Heydari Nasrabadi, M., & Salehi, E. (2025). Curcumin Protects Human Sperm Quality During Cryopreservation. *Biopreserv Biobank*, 23(3), 236-242. <https://doi.org/10.1089/bio.2023.0091>
- Mazidi, M., Karimi, E., Meydani, M., Ghayour-Mobarhan, M., & Ferns, G. A. (2016). Potential effects of curcumin on peroxisome proliferator-activated receptor-gamma in vitro and in vivo. *World Journal of Methodology*, 6(1), 112-117. <https://doi.org/10.5662/wjm.v6.i1.112>
- Mishra, R. K., Singh, S., & Singh, S. K. (2018). Natural products in regulation of male fertility. *Indian Council of Medical Research*, 148(Suppl), S107-S114. https://doi.org/10.4103/ijmr.IJMR_1968_17
- Moretti, E., Terzuoli, G., Mazzi, L., Iacoponi, F., & Collodel, G. (2012). Immunolocalization of aquaporin 7 in human sperm and its relationship with semen parameters. *Systems Biology in reproductive medicine*, 58(3), 129-135. <https://doi.org/10.3109/19396368.2011.644385>

- Mruk, D. D., & Cheng, C. Y. (2015). The Mammalian Blood-Testis Barrier: Its Biology and Regulation. *Endocrine reviews*, 36(5), 564-591. <https://doi.org/10.1210/er.2014-1101>
- Nabiuni, M., Nazari, Z., Safaeinejad, Z., Delfan, B., & Miyan, J. A. (2013). Curcumin downregulates aquaporin-1 expression in cultured rat choroid plexus cells. *Journal of medicinal food*, 16(6), 504-510. <https://doi.org/10.1089/jmf.2012.0208>
- Nora, H., Rajuddin, Hafizudin, Suhanda, R., & Indirayani, I. (2022). Curcumin, a potential oral herbal male contraceptive: a review article. *Bali Medical Journal*, 12(1), 82-86. <https://doi.org/10.15562/bmj.v12i1.3937>
- Nur Karakus, F., Bulgurcuoglu Kuran, S., & Solakoglu, S. (2021). Effect of curcumin on sperm parameters after the cryopreservation. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology* 267, 161-166. <https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2021.10.027>
- O'Donnell, L. (2014). Mechanisms of spermiogenesis and spermiation and how they are disturbed. *Spermatogenesis*, 4(2), e979623. <https://doi.org/10.4161/21565562.2014.979623>
- O'Donnell, L., Smith, L. B., & Rebourcet, D. (2022). Sertoli cells as key drivers of testis function. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 121, 2-9. <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2021.06.016>
- Odetayo, A. F., Akhigbe, R. E., Bassey, G. E., Hamed, M. A., & Olayaki, L. A. (2023). Impact of stress on male fertility: role of gonadotropin inhibitory hormone. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 14, 1329564. <https://doi.org/10.3389/fendo.2023.1329564>

- Oduwole, O. O., Peltoketo, H., & Huhtaniemi, I. T. (2018). Role of Follicle-Stimulating Hormone in Spermatogenesis. *Front Endocrinol (Lausanne)*, *9*, 763. <https://doi.org/10.3389/fendo.2018.00763>
- Ojo, O. A., Nwafor-Ezeh, P. I., Rotimi, D. E., Iyobhebhe, M., Ogunlakin, A. D., & Ojo, A. B. (2023). Apoptosis, inflammation, and oxidative stress in infertility: A mini review. *Toxicology Reports*, *10*, 448-462. <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2023.04.006>
- Oko, R., & Sutovsky, P. (2009). Biogenesis of sperm perinuclear theca and its role in sperm functional competence and fertilization. *Journal of Reproductive Immunology*, *83*(1-2), 2-7. <https://doi.org/10.1016/j.jri.2009.05.008>
- Ozimic, S., Ban-Franchez, H., & Stimpfel, M. (2023). Sperm Cryopreservation Today: Approaches, Efficiency, and Pitfalls. *Current Issues in Molecular Biology* *45*(6), 4716-4734. <https://doi.org/10.3390/cimb45060300>
- Ozkanlar, S., Ulas, N., Kaynar, O., & Satici, E. (2023). P2X7 receptor antagonist A-438079 alleviates oxidative stress of lung in LPS-induced septic rats. *Purinergic Signal*, *19*(4), 699-707. <https://doi.org/10.1007/s11302-023-09936-z>
- Pellavio, G., Rui, M., Caliozna, L., Martino, E., Gastaldi, G., Collina, S., & Laforenza, U. (2017). Regulation of Aquaporin Functional Properties Mediated by the Antioxidant Effects of Natural Compounds. *International Journal of Molecular Sciences*, *18*(12), 2665. <https://doi.org/10.3390/ijms18122665>
- Pequeno, B., Castano, C., Alvarez-Rodriguez, M., Boveda, P., Millan de la Blanca, M. G., Toledano-Diaz, A., Galarza, D. A., Rodriguez-Martinez, H., Martinez-Madrid, B., & Santiago-Moreno, J. (2023). Variation of existence and location of aquaporin 3 in relation to cryoresistance of ram spermatozoa. *Frontiers in Veterinary Science*, *10*, 1167832. <https://doi.org/10.3389/fvets.2023.1167832>

- Pequeno, B., Millan de la Blanca, M. G., Castano, C., Toledano-Diaz, A., Estes, M. C., Alba, E., Arrebola, F. A., Ungerfeld, R., Martinez-Madrid, B., Alvarez-Rodriguez, M., Rodriguez-Martinez, H., & Santiago-Moreno, J. (2024). Cooling rate modifies the location of aquaporin 3 in spermatozoa of sheep and goat. *Theriogenology*, 223, 29-35. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2024.04.008>
- Potiris, A., Moustakli, E., Trismpioti, E., Drakaki, E., Mavrogianni, D., Matsas, A., Zikopoulos, A., Sfakianakis, A., Tsakiridis, I., Dagklis, T., Zachariou, A., Christopoulos, P., Domali, E., Drakakis, P., & Stavros, S. (2025). From Inflammation to Infertility: How Oxidative Stress and Infections Disrupt Male Reproductive Health. *Metabolites*, 15(4), 267. <https://doi.org/10.3390/metabo15040267>
- Prieto-Martinez, N., Morato, R., Muino, R., Hidalgo, C. O., Rodriguez-Gil, J. E., Bonet, S., & Yeste, M. (2017). Aquaglyceroporins 3 and 7 in bull spermatozoa: identification, localisation and their relationship with sperm cryotolerance. *Reproduction, Fertility and Development*, 29(6), 1249-1259. <https://doi.org/10.1071/RD16077>
- Prieto-Martinez, N., Vilagran, I., Morato, R., Rivera Del Alamo, M. M., Rodriguez-Gil, J. E., Bonet, S., & Yeste, M. (2017). Relationship of aquaporins 3 (AQP3), 7 (AQP7), and 11 (AQP11) with boar sperm resilience to withstand freeze-thawing procedures. *Andrology*, 5(6), 1153-1164. <https://doi.org/10.1111/andr.12410>
- Prieto-Martinez, N., Vilagran, I., Morato, R., Rodriguez-Gil, J. E., Yeste, M., & Bonet, S. (2016). Aquaporins 7 and 11 in boar spermatozoa: detection, localisation and relationship with sperm quality. *Reproduction, Fertility and Development*, 28(6), 663-672. <https://doi.org/10.1071/RD14237>

- Priyadarsini, K. I. (2014). The chemistry of curcumin: from extraction to therapeutic agent. *Molecules*, *19*(12), 20091-20112.
- Protopapas, N., Hamilton, L. E., Warkentin, R., Xu, W., Sutovsky, P., & Oko, R. (2019). The perforatorium and postacrosomal sheath of rat spermatozoa share common developmental origins and protein constituents. *Biology of Reproduction* *100*(6), 1461-1472. <https://doi.org/10.1093/biolre/ioz052>
- Ramm, S. A., Parker, G. A., & Stockley, P. (2005). Sperm competition and the evolution of male reproductive anatomy in rodents. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, *272*(1566), 949-955. <https://doi.org/10.1098/rspb.2004.3048>
- Rapti, E., Adamantidi, T., Efthymiopoulos, P., Kyzas, G. Z., & Tsoupras, A. (2024). Potential applications of the anti-inflammatory, antithrombotic and antioxidant health-promoting properties of curcumin: A critical review. *Nutraceuticals*, *4*(4), 562-595.
- Raut, S., Khambata, K., Singh, D., & Balasinor, N. H. (2025). Molecular mechanisms underlying the effects of hypo- and hyper-prolactinemia on spermatogenesis and fertility in male rats. *Journal of Endocrinological Investigation*, *48*(3), 743-756. <https://doi.org/10.1007/s40618-024-02471-7>
- Rege, S. A., Arya, M., & Momin, S. A. (2019). Structure activity relationship of tautomers of curcumin: a review. *Ukrainian food journal*, *8*(1), 45-60. <https://doi.org/10.24263/2304-974x-2019-8-1-6>
- Reichow, S. L., Clemens, D. M., Freites, J. A., Nemeth-Cahalan, K. L., Heyden, M., Tobias, D. J., Hall, J. E., & Gonen, T. (2013). Allosteric mechanism of water-channel gating by Ca²⁺-calmodulin. *Nature Structural & Molecular Biology*, *20*(9), 1085-1092. <https://doi.org/10.1038/nsmb.2630>

- Ribeiro, J. C., Bernardino, R. L., Goncalves, A., Barros, A., Calamita, G., Alves, M. G., & Oliveira, P. F. (2023). Aquaporin-7-mediated glycerol permeability is linked to human sperm motility in asthenozoospermia and during sperm capacitation. *Cells*, *12*(15). <https://doi.org/10.3390/cells12152003>
- Roshankhah, S. H., Salahshoor, M. R., Aryanfar, S., Jalili, F., Sohrabil, M., & Jalili, C. (2017). Effects of curcumin on sperm parameters abnormalities induced by morphine in rat. *Journal of Medical and Biomedical Sciences*, *6*(2), 1-10. <https://doi.org/10.4314/jmbs.v6i2.1>
- Saito, K., Kageyama, Y., Okada, Y., Kawakami, S., Kihara, K., Ishibashi, K., & Sasaki, S. (2004). Localization of aquaporin-7 in human testis and ejaculated sperm: possible involvement in maintenance of sperm quality. *The Journal of urology*, *172*(5 Pt 1), 2073-2076. <https://doi.org/10.1097/01.ju.0000141499.08650.ab>
- Santonastaso, M., Mottola, F., Iovine, C., Colacurci, N., & Rocco, L. (2021). Protective Effects of Curcumin on the Outcome of Cryopreservation in Human Sperm. *Reproductive Sciences*, *28*(10), 2895-2905. <https://doi.org/10.1007/s43032-021-00572-9>
- Saulnier, J., Chalmel, F., Delessard, M., Moutard, L., Pereira, T., Fraissinet, F., Dumont, L., Rives-Feraille, A., Rondanino, C., & Rives, N. (2022). Understanding the underlying molecular mechanisms of meiotic arrest during in vitro spermatogenesis in rat prepubertal testicular tissue. *International Journal of Molecular Sciences*, *23*(11), 5893. <https://doi.org/10.3390/ijms23115893>
- Shahedi, A., Talebi, A. R., Mirjalili, A., & Pourtezarzi, M. (2021). Protective effects of curcumin on chromatin quality, sperm parameters, and apoptosis following testicular torsion-detorsion in mice. *Clinical and Experimental Reproductive Medicine* *48*(1), 27-33. <https://doi.org/10.5653/cerm.2020.03853>

- Sharifi-Rad, J., Rayess, Y. E., Rizk, A. A., Sadaka, C., Zgheib, R., Zam, W., Sestito, S., Rapposelli, S., Neffe-Skocinska, K., Zielinska, D., Salehi, B., Setzer, W. N., Dosoky, N. S., Taheri, Y., El Beyrouthy, M., Martorell, M., Ostrander, E. A., Suleria, H. A. R., Cho, W. C., & Martins, N. (2020). Turmeric and Its Major Compound Curcumin on Health: Bioactive Effects and Safety Profiles for Food, Pharmaceutical, Biotechnological and Medicinal Applications. *Frontiers in Pharmacology, 11*, 01021. <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.01021>
- Sharma, Y., & Sharma, M. (2020). Sperm cryopreservation: principles and biology. *future, 7*, 11. [https://doi.org/10.47277/JIRB/8\(3\)/43](https://doi.org/10.47277/JIRB/8(3)/43)
- Shaw, R., Hati, R., Sharma, S., Deep, S., & Chaube, R. (2025). Protective role of curcumin in cadmium-induced physiological and reproductive toxicity in male BALB/c mice. *Phytomedicine Plus, 5*(2), 100803. <https://doi.org/10.1016/j.phyplu.2025.100803>
- Shimizu, K., Funamoto, M., Sunagawa, Y., Shimizu, S., Katanasaka, Y., Miyazaki, Y., Wada, H., Hasegawa, K., & Morimoto, T. (2019). Anti-inflammatory action of curcumin and its use in the treatment of lifestyle-related diseases. *European Cardiology, 14*(2), 117-122. <https://doi.org/10.15420/ecr.2019.17.2>
- Soleimanzadeh, A., & Saberivand, A. (2013). Effect of curcumin on rat sperm morphology after the freeze-thawing process. *Veterinary Research Forum, 4*(3), 185-189. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25653795>
- Staub, C., & Johnson, L. (2018). Review: Spermatogenesis in the bull. *Animal, 12*(s1), s27-s35. <https://doi.org/10.1017/S1751731118000435>
- Steger, K., & Balhorn, R. (2018). Sperm nuclear protamines: A checkpoint to control sperm chromatin quality. *Anatomy, Histology, Embryology, 47*(4), 273-279. <https://doi.org/10.1111/ahe.12361>

Suede, S. H., Malik, A., & Sapra, A. (2025). Histology, Spermatogenesis. In *StatPearls*. StatPearls Publishing

Copyright © 2025, StatPearls Publishing LLC.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31985935>

Suzuki-Toyota, F., Ishibashi, K., & Yuasa, S. (1999). Immunohistochemical localization of a water channel, aquaporin 7 (AQP7), in the rat testis. *Cell and tissue research*, 295(2), 279-285. <https://doi.org/10.1007/s004410051234>

Taherian, S. S., Khayamabed, R., Tavalae, M., & Nasr-Esfahani, M. H. (2019). Alpha-lipoic acid minimises reactive oxygen species-induced damages during sperm processing. *Andrologia*, 51(8), e13314. <https://doi.org/10.1111/and.13314>

Tamburrino, L., Traini, G., Ragosta, M. E., Dabizzi, S., Vezzani, S., Scarpa, F., Vignozzi, L., Baldi, E., & Marchiani, S. (2024). Semen cryopreservation and storage in liquid nitrogen: Impact on chromatin compaction. *Andrology*. <https://doi.org/10.1111/andr.13806>

Tas, D. O., Ozkavukcu, S., Inanc, I., Kose, S. K., & Erdemli, E. (2023). The effects of coenzyme Q10 and curcumin supplementation in freezing medium for human sperm cryopreservation. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*, 287, 36-45. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2023.05.040>

Tesse, A., Grossini, E., Tamma, G., Brenner, C., Portincasa, P., Marinelli, R. A., & Calamita, G. (2018). Aquaporins as targets of dietary bioactive phytochemicals. *Frontiers in molecular biosciences*, 5, 30. <https://doi.org/10.3389/fmolb.2018.00030>

- Teves, M. E., & Roldan, E. R. S. (2022). Sperm bauplan and function and underlying processes of sperm formation and selection. *Physiological Reviews*, *102*(1), 7-60. <https://doi.org/10.1152/physrev.00009.2020>
- Ulloa-Aguirre, A., Dias, J. A., & Bousfield, G. R. (2017). Gonadotropins. In M. Simoni & I. T. Huhtaniemi (Eds.), *Endocrinology of the Testis and Male Reproduction* (pp. 71-122). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-44441-3_3
- Verkman, A. S. (2013). Aquaporins. *Current Biology* *23*(2), R52-55. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2012.11.025>
- Vicente-Carrillo, A., Ekwall, H., Alvarez-Rodriguez, M., & Rodriguez-Martinez, H. (2016). Membrane Stress During Thawing Elicits Redistribution of Aquaporin 7 But Not of Aquaporin 9 in Boar Spermatozoa. *Reproduction in Domestic Animals*, *51*(5), 665-679. <https://doi.org/10.1111/rda.12728>
- Wang, J. M., Li, Z. F., Yang, W. X., & Tan, F. Q. (2022). Follicle-stimulating hormone signaling in Sertoli cells: a licence to the early stages of spermatogenesis. *Reproductive Biology and Endocrinology*, *20*(1), 97. <https://doi.org/10.1186/s12958-022-00971-w>
- Wang, Y., Fu, X., & Li, H. (2025). Mechanisms of oxidative stress-induced sperm dysfunction. *Front Endocrinol (Lausanne)*, *16*, 1520835. <https://doi.org/10.3389/fendo.2025.1520835>
- Wilkinson, J. M., Halley, S., & Towers, P. A. (2000). Comparison of male reproductive parameters in three rat strains: Dark Agouti, Sprague-Dawley and Wistar. *Laboratory animals*, *34*(1), 70-75. <https://doi.org/10.1258/002367700780577975>

- Wolnicka-Glubisz, A., & Wisniewska-Becker, A. (2023). Dual action of curcumin as an anti- and pro-oxidant from a biophysical perspective. *Antioxidants (Basel)*, *12*(9), 1725. <https://doi.org/10.3390/antiox12091725>
- Wright, W. W. (2022). The regulation of spermatogonial stem cells in an adult testis by glial cell line-derived neurotrophic factor. *Front Endocrinol (Lausanne)*, *13*, 896390. <https://doi.org/10.3389/fendo.2022.896390>
- Yan, Y., Kulsoom, Sun, Y., Li, Y., Wang, Z., Xue, L., & Wang, F. (2025). Advancing cancer therapy: Nanomaterial-based encapsulation strategies for enhanced delivery and efficacy of curcumin. *Materials Today Bio*, *33*, 101963. <https://doi.org/10.1016/j.mtbio.2025.101963>
- Yeste, M., Morato, R., Rodriguez-Gil, J. E., Bonet, S., & Prieto-Martinez, N. (2017). Aquaporins in the male reproductive tract and sperm: Functional implications and cryobiology. *Reproduction in Domestic Animals*, *52 Suppl 4*(S4), 12-27. <https://doi.org/10.1111/rda.13082>
- Yeung, C. H., Callies, C., Rojek, A., Nielsen, S., & Cooper, T. G. (2009). Aquaporin isoforms involved in physiological volume regulation of murine spermatozoa. *Biology of Reproduction* *80*(2), 350-357. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.108.071928>
- Yogo, K. (2022). Molecular basis of the morphogenesis of sperm head and tail in mice. *Reproductive Medicine and Biology*, *21*(1), e12466. <https://doi.org/10.1002/rmb2.12466>
- Youngson, N. A., Uddin, G. M., Das, A., Martinez, C., Connaughton, H. S., Whiting, S., Yu, J., Sinclair, D. A., Aitken, R. J., & Morris, M. J. (2019). Impacts of obesity, maternal obesity and nicotinamide mononucleotide supplementation on sperm

quality in mice. *Reproduction*, 158(2), 169-179. <https://doi.org/10.1530/REP-18-0574>

Zhang, C. Q., Li, S. S., Hu, B., Xu, L. W., Liu, J. J., Sun, Y. J., & Bai, X. (2024). Effect of GnRH active immunisation on reproductive performance of male sprague dawley rats. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(6), 3193. <https://doi.org/10.3390/ijms25063193>

Zhang, Y., Oko, R., & van der Hoorn, F. A. (2004). Rat kinesin light chain 3 associates with spermatid mitochondria. *Developmental biology*, 275(1), 23-33. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2004.07.014>

Zhao, W., Li, Z., Ping, P., Wang, G., Yuan, X., & Sun, F. (2018). Outer dense fibers stabilize the axoneme to maintain sperm motility. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 22(3), 1755-1768. <https://doi.org/10.1111/jcmm.13457>

Zhu, C., Nie, X., Lu, Q., Bai, Y., & Jiang, Z. (2023). Roles and regulation of Aquaporin-3 in maintaining the gut health: an updated review. *Frontiers in Physiology*, 14, 1264570. <https://doi.org/10.3389/fphys.2023.1264570>

EK-2. Etik Kurul Onay Formu

TOPLANTI TARİHİ : 26.03.2024

TOPLANTI SAYISI : 2024/03

KARAR NO 78: Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi Dekanlığı, Klinik Bilimler Bölümü, Dölerme ve Suni Tohumlama Anabilim Dalı öğretim üyesi

ün yürütücülüğünde, Atatürk Üniversitesi Rektörlüğü, Gıda ve Hayvancılık Uygulama ve Araştırma Merkezi Müdürlüğünde yapılacak olan "**Curcuminin Farklı Uygulama Dozlarının Rat Spermasındaki AQP3 Ve AQP7 Proteinleri Üzerine Etkinliğinin Araştırılması**" başlıklı tez çalışması ile ilgili Veteriner Fakültesi Dekanlığının 25.03.2024 tarih ve E-36643897-000-2400106463 sayılı yazısı ile ekleri görüşüldü.

Yapılan görüşmelerden sonra; adı geçen araştırma çalışmasının yürütülmesinin etik kurallarına uygun olduğuna, taahhütrame hükümleri gereğince çalışma sonucunun Başkanlığımıza bildirilmesine, katılanların oy birliği ile kabulüne; karar verildi.

Kurul Başkanı

Ek : Sonuç Raporu. 1 Adet.

Bu belge, güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

Doğrulama Kodu: 5730d2d1-4f92-40bd-88e4-b8e457e59b61

Doğrulama Adresi: <https://www.turkiye.gov.tr/ataurk-universitesi-ebys>

Anatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi 25240 Erzurum

Tel: +90 442 2317222

Elektronik Ağ: <http://www.atauni.edu.tr/#/binim-vetener-fakultesi>

Keşif Adresi: atauni@hs01.kep.tr

Bilgi: Gülhan AÇKURT

Faks: +90 442 2317244

E-Posta: vetfak@atauni.edu.tr

