



**T.C.
MUĞLA SITKI KOÇMAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANA BİLİM DALI
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ TEZLİ YÜKSEK LİSANS PROGRAMI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

***LAVANDULA STOECHAS*'IN KADMIYUM KLORÜR İLE
SIÇANLARDA İNDÜKLENEN TESTİS HASARINDAKİ OLASI
KORUYUCU ETKİLERİNİN HİSTOPATOLOJİK OLARAK
ARAŞTIRILMASI**

Süleyman BAKAR

MUĞLA-2022

T.C.
MUĞLA SITKI KOÇMAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANA BİLİM DALI
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ TEZLİ YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

***LAVANDULA STOECHAS*'IN KADMIYUM KLORÜR İLE
SIÇANLARDA İNDÜKLENEN TESTİS HASARINDAKİ OLASI
KORUYUCU ETKİLERİNİN HİSTOPATOLOJİK OLARAK
ARAŞTIRILMASI**

Süleyman BAKAR

Tez Danışmanı
Prof. Dr. Feral ÖZTÜRK

*Bu tez, Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi
Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından
21/131/02/3/4 kod numaralı proje ile desteklenmiştir.*

MUĞLA-2022

TEZ ONAYI

Süleyman BAKAR tarafından hazırlanan “*Lavandula Stoechas*’ın Kadmiyum Klorür ile Sıçanlarda İndüklenen Testis Hasarındaki Olası Koruyucu Etkilerinin Histopatolojik Olarak Araştırılması” başlıklı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, Histoloji ve Embriyoloji Tezli Yüksek Lisans Programında, Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı

Prof. Dr. Feral ÖZTÜRK

(İmza)

Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi

Üye

Doç. Dr. Hülya ELBE

(İmza)

Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi

Üye

Prof. Dr. Meltem KURUŞ

(İmza)

İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi

Tez savunma tarihi: 23.12.2022

Bu tez Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, Histoloji ve Embriyoloji Tezli Yüksek Lisans Programında, Yüksek Lisans Tezi olması için gerekli şartları yerine getirmektedir.

Prof. Dr. Müesser ÖZCAN

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI

Tezin kendi orijinal çalışmam olduğunu, başkalarının haklarını ihlal etmediğimi ve tezimin tek yetkili sahibi olduğumu beyan ve taahhüt ederim. Tezimde yer alan telif hakkı bulunan metinleri sahiplerinden yazılı izin alarak kullandığımı ve istenildiğinde suretlerini Üniversiteye teslim etmeyi taahhüt ederim.

Enstitü tarafından onaylanan lisansüstü tezimin tamamını veya herhangi bir kısmını, basılı (kâğıt) ve elektronik formatta arşivleme ve aşağıda verilen koşullarla kullanıma açma iznini Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesine verdiğimi bildiririm. Bu izinle Üniversiteye verilen kullanım hakları dışındaki tüm fikri mülkiyet haklarım bende kalacak, tezimin tamamının ya da bir bölümünün gelecekteki çalışmalarda (makale, kitap, lisans ve patent vb.) kullanım hakları bana ait olacaktır.

Yükseköğretim Kurulu tarafından yayınlanan **“Lisansüstü Tezlerin Elektronik Ortamda Toplanması, Düzenlenmesi ve Erişime Açılmasına İlişkin Yönerge”** kapsamında tezim aşağıda belirtilen koşullar haricinde YÖK Ulusal Tez Merkezi / MSKÜ Açık Erişim Sisteminde erişime açılabilir.

- ☐ Tezimle ilgili patent başvurusu yapılacağından veya patent alma süreci devam ettiğinden Enstitü Yönetim Kurulu kararı ile tezimin mezuniyet tarihimden itibaren 2 yıl erişime açılmasının ertelenmesini talep ediyorum.
- ☒ Tezimde yeni teknik, materyal ve metotlar kullanıldığından ve henüz makaleye dönüşmemiş olduğundan Enstitü Yönetim Kurul kararı ile mezuniyet tarihimden itibaren 6 ay tezimin erişime açılmasının ertelenmesini talep ediyorum.

23.12.2022

(İmza)

Süleyman BAKAR

ETİK BEYAN

Yüksek lisans tezi olarak sunduğum “Lavandula Stoechas’ın Kadmiyum Klorür ile Sıçanlarda İndüklenen Testis Hasarındaki Olası Koruyucu Etkilerinin Histopatolojik Olarak Araştırılması” isimli çalışmada tezin planlanmasından yazımına kadar tüm süreçlerde etik ilkelere bağlı kaldığımı, tezime ilişkin bilgi ve belgeleri akademik ve bilimsel etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, kullandığım verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı, tezimde kullandığım tüm görsel ve yazılı materyallerin kaynağını gösterdiğimi, yararlandığım eserlerin tümünün kaynaklar bölümünde yer aldığını, tezimin Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kılavuzuna göre yazıldığını beyan ederim.

23.12.2022

(İmza)

Süleyman BAKAR

TEŞEKKÜR

Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi'ndeki yüksek lisans eğitimim boyunca bilgi ve tecrübelerini benden esirgemeyen, yol gösteren ve destek olan saygıdeğer danışman hocam Prof. Dr. Feral ÖZTÜRK'e teşekkürlerimi sunarım. Yüksek lisans eğitimim boyunca her konuda deneyim ve bilgilerini benimle paylaşan değerli hocam Doç. Dr. Hülya ELBE'ye, yüksek lisansımın her aşamasında yanımda olan yardımlarını eksik etmeyen değerli hocam Dr. Öğr. Üyesi Gürkan YİĞİTTÜRK ve Arş. Gör. Dr. Melike ÖZGÜL ÖNAL'a, lisansüstü eğitimim boyunca benden bilgilerini ve desteklerini esirgemeyen sayın Dr. Öğr. Üyesi Gazi CONTUK'a ve yüksek lisans eğitimim boyunca birlikte çalıştığım tüm arkadaşlarıma teşekkürlerimi sunarım.

Tez jürime katılımından dolayı çok mutlu olduğum sayın hocam Prof. Dr. Meltem KURUŞ'a teşekkürlerimi sunarım

Lisansüstü eğitimim süresince beni her zaman destekleyen sevgili arkadaşım Merve Almula BAKIRDÖĞEN'e, desteklerini esirgemeyen Elif YILMAZ ve Mehmet YILMAZ'a ve beni bugünlere getiren annem Rukiye BAKAR ile babam Mahmut BAKAR'a büyük teşekkürlerimi sunarım.

LAVANDULA STOECHAS'IN KADMIYUM KlorÜR İLE SIÇANLARDA İNDÜKLENEN TESTİS HASARINDAKİ OLASI KORUYUCU ETKİLERİNİN HİSTOPATOLOJİK OLARAK ARAŞTIRILMASI

ÖZET

Bu çalışma, *Lavandula stoechas*'ın kadmiyum klorür ile sıçanlarda indüklenen testis hasarındaki olası koruyucu etkilerinin histopatolojik olarak araştırılması amacı ile yapılmıştır. Kadmiyum (Cd) metal kaplama endüstrisinde, kimyasal gübrelerde, plastik ürünlerde ve boyalarda bulunabilen çevreyi kirleten bir maddedir. İnsanlar ve hayvanlar, Kadmiyum ile kirlenmiş tarım ürünlerini tüketerek veya solunum yoluyla bu toksik metali alabilirler. Kadmiyum oksidatif strese yol açar ve antioksidan savunma sistemini bozar. Çalışmalar Kadmiyum maruziyetinin memelilerde kan testis bariyerinin bozulmasına, germ hücre kaybına, testis ödemine, kanamaya, inflamasyon ve steriliteye neden olduğunu göstermiştir. Bu faktörlerin çoğu oksidatif strese neden olur. Spermatozoa, oksidatif strese karşı çoğu hücreden daha fazla duyarlıdır. Kadmiyum toksisitesini engelleyebilmek için doğal ürünlerin kullanılması yönünde çalışmalar yapılmaktadır. *Lavandula stoechas*, Labiatae (Lamiaceae) familyasının önemli bir üyesidir. Bu bitki aktif bileşiklerinin yüksek içeriği, antioksidan ve antienflamatuvar etkileri nedeniyle terapötik olarak birçok yararlı etki sunar. Bu çalışmada, 35 erkek Wistar albino sıçanları rastgele olarak kontrol (K) grubu, taşıyıcı (T) grubu (50 mg/kg/gün i.p.), *Lavandula stoechas* (LSEO) grubu (50 mg/kg/gün i.p.), kadmiyum klorür (CdCl₂) grubu (2 mg/kg/gün i.p.) ve CdCl₂ (2 mg/kg/gün i.p.) + LSEO grubu (50mg/kg/gün i.p) olmak üzere beş gruba ayrılmıştır. İlaç uygulamaları 20 gün boyunca her gün aynı saatte uygulanmıştır. Deney 21. Günde sonlandırılarak testisler histopatolojik olarak incelenmiş, seminifer tübül çapları ölçülmüş ve Johnsen testiküler skor analizi yapılmıştır. CdCl₂ ile kontrol grubuna göre sıçan ağırlıklarının (p<0,01), seminifer tübül çaplarının (p<0.001) ve Johnsen skorunun (p<0.001) istatistiksel olarak anlamlı seviyede azaldığı saptanmıştır. LSEO ile sıçan ağırlıklarının CdCl₂ grubuna göre arttığı, ancak LSEO + CdCl₂ grubunda seminifer tübül çaplarının (p<0.001) ve Johnsen skorunun (p<0.001) kontrol grubuna göre anlamlı seviyede azaldığı gözlemlendi. Çalışmamızda 20 gün süreyle 50 mg/kg LSEO uygulamasının sıçanlarda 2 mg/kg CdCl₂ ile oluşan kilo kaybını engellediği ancak CdCl₂'ün oluşturduğu histopatolojik hasar üzerinde belirgin bir koruyucu etki göstermediği tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Testis, Kadmiyum, *Lavandula Stoechas*, Histopatoloji

HISTOPATHOLOGICAL INVESTIGATION OF THE POSSIBLE PROTECTIVE EFFECTS OF *LAVANDULA STOECHAS* ON TESTICULAR DAMAGE INDUCED BY CADMIUM CHLORIDE IN RATS

ABSTRACT

This study was carried out to investigate the possible protective effects of *Lavandula stoechas* on testicular damage induced by cadmium chloride in rats. Cadmium (Cd) is an environmental pollutant that can be found in the metal plating industry, chemical fertilizers, plastic products and paints. People and animals can ingest this toxic metal by consuming or breathing in agricultural products contaminated with cadmium. Cadmium causes oxidative stress and impairs the antioxidant defense system. Studies have shown that cadmium exposure causes disruption of the blood testicular barrier in mammals, germ cell loss, testicular edema, bleeding, inflammation, and sterility. Many of these factors cause oxidative stress. Spermatozoa are more sensitive to oxidative stress than most cells. In order to prevent cadmium toxicity, studies are carried out to use natural products. *Lavandula stoechas* is an important member of the Labiatae (Lamiaceae) family. This plant offers many beneficial effects therapeutically due to its high content of active compounds, antioxidant and anti-inflammatory effects. In this study, 35 male Wistar rats were randomly assigned to five groups as follows: Control group, vehicle group (50 mg/kg/day i.p.), cadmium chloride (CdCl_2) group (2 mg/kg/day i.p.), *Lavandula stoechas* (LSEO) group (50 mg/kg/day i.p.) and CdCl_2 (2 mg/kg/day i.p.) + LSEO (50 mg/kg/day i.p.) group. The treatment was applied for 20 days daily. The experiment was terminated on the 21st day, testes were examined histopathologically, tubule diameters were measured, and Johnsen testicular score analysis was performed. It was determined that rat weights ($p<0.01$), seminiferous tubule diameters ($p<0.001$) and Johnsen score ($p<0.001$) were significantly decreased in CdCl_2 group when compared to the control group. It was observed that rat weights increased in the LSEO + CdCl_2 group when compared to the CdCl_2 group. However the seminiferous tubule diameters ($p<0.001$) and Johnsen score ($p<0.001$) were decreased significantly when compared to the control group. In our study, it was determined that 50 mg/kg LSEO administration for twenty days prevented weight loss caused by 2 mg/kg CdCl_2 in rats but did not show any significant protective effect on the histopathological damage of testis caused by CdCl_2 .

Keywords: Testis, Cadmium, *Lavandula Stoechas*, Histopathology

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	i
YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI	ii
ETİK BEYAN	iii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
ABSTRACT.....	vi
İÇİNDEKİLER.....	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	x
ŞEKİLLER VE RESİMLER DİZİNİ.....	xi
TABLolar DİZİNİ.....	xiii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Testis Anatomisi.....	4
2.2. Testis Embriyolojisi	4
2.2.1. Gonadların Gelişimi	5
2.2.2. Primordiyal Germ Hücreleri.....	5
2.2.3. Cinsiyet Belirlenmesi	5
2.2.4. Testislerin gelişimi	6
2.3. Testis Histolojisi	7
2.3.1. Seminifer Tübüller	8
2.3.2. Seminifer Epitel.....	9
2.3.3. Peritübüler Miyoid Hücreler	10
2.3.4. Leydig Hücreleri.....	10
2.3.5. Sertoli Hücreleri	11
2.3.6. Spermatogenik Hücreler.....	13
2.4. Testis Fizyolojisi	15
2.4.1. Testosteron Sentezi ve Salgılanması	15
2.4.2. Spermatogenez ve Hormonal Etki.....	16
2.5. Diğer Erkek İç Üreme Organları.....	17
2.5.1. Tubuli Rekti.....	17
2.5.2. Rete Testis	17
2.5.3. Ductuli Efferentes.....	17
2.5.4. Epididimis	17
2.5.5. Ductus Deferens	18

2.5.6. Duktus Ejakulatoryus	18
2.6. Erkek Genital Sistem Yardımcı Bezleri	19
2.6.1. Vesikula Seminalis	19
2.6.2. Prostat Bezi.....	19
2.6.3. Bulboüretal bezler	20
2.7. Apoptoz	20
2.7.1. Apoptozda Biyokimyasal Değişiklikler	21
2.7.2. Apoptoz mekanizmaları	22
2.7.3. İntrinsik Yol	22
2.7.4. Ekstrinsik yol.....	23
2.8. Kadmiyum.....	23
2.8.1. Fiziksel özellikler	24
2.8.2. Kimyasal özellikler.....	24
2.8.3. Kullanım Alanları.....	24
2.8.4. İnsan Vücudunda Rezorpsiyonu.....	24
2.8.5. Vücuttaki Kadmiyumun Taşınması.....	26
2.8.6. İnsan Sağlığına Yönelik Tehlikeler.....	27
2.8.7. Kadmiyumun Testis Üzerine Etkisi	30
2.8.8. Kadmiyum Aracılı Eylem Mekanizmaları	33
2.8.9. Deneysel Olarak Kadmiyum ile İndüklenen Testis Hasarı Modellemesi ...	34
2.9. <i>Lavandula Stoechas</i>	36
3. YÖNTEM	37
3.1. Araştırma Modeli	37
3.2. Araştırma Evren ve Örneklemi/Araştırma Materyali.....	37
3.3. Veri Toplama Araçları	41
3.3.1. Tespit Solüsyonları.....	41
3.3.2. Doku Takibi ve Bloklama	41
3.3.3. Kesit Alma.....	42
3.3.4. Hematoksilen Eosin (H-E) Boyama	42
3.3.5. Johnsen Testiküler Skoru	43
3.3.6. Seminifer Tübül Çaplarının Ölçümü	44
3.4. Veri Toplama Süreci	44
3.5. Deneysel Kurgu.....	45
3.6. İstatistiksel Analiz.....	45
3.7. Etik Onay	46
3.8. Araştırmanın Sınırlılıkları	46
4. BULGULAR.....	47

4.1. Ağırlık Analizi	47
4.2. Histolojik Bulgular.....	48
4.2.1. Hematoksilen-Eozin boyama	48
4.3. Morfometrik Bulgular	66
4.3.1. Johnsen Testiküler Skor Analizi.....	66
4.3.2. Seminifer Tübül Çapı Ölçümü	67
5. TARTIŞMA	68
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	74
6.1. Sonuçlar	74
6.2. Öneriler	75
KAYNAKLAR	76
EKLER	86
Ek 1: ETİK KURUL ONAYI	86
Ek 2: KURUM İZİN ONAYI	87
Ek 3: ÖZGEÇMİŞ.....	88

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AMH	Antimüllerian hormon
BCL-2	Anti Apoptotik gen
Cd	Kadmiyum
Cd (NO₃)₂	Kadmiyum nitrat
CD95	Tümör nekroz faktör reseptör
CdCl₂	Kadmiyum klorür
DIABLO	Düşük pI'li doğrudan IAP Bağlayıcı protein
ER	Endoplazmik retikulum
FAK	Fokal yapışma kinaz
FSH	Folikül uyarıcı hormon
GSH	Aktif Glutatyon
IAP	Apoptoz proteinleri
INSL3	İnsülin benzeri faktör 3
KTb	Kan testis bariyeri
LH	Luteinizan hormon
LSEO	<i>Lavandula Stoechas</i> esansiyel yağı
LSEO + CdCl₂	<i>Lavandula Stoechas</i> esansiyel yağı + kadmiyum klorür
MAPK	p38 mitojenle aktive olan protein kinaz
ROS	Reaktif oksijen türleri
TbF	Testis belirleyici faktör
TNF	Tümör nekroz faktörü

ŞEKİLLER VE RESİMLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Testis genel histolojik görünümü	8
Resim 2.1. Seminifer tübüller H-E boyama X200.....	9
Resim 2.2. Leydig hücreleri (ok işareti) H-E boyama X400	11
Şekil 2.2. Seminifer tübül görüntüsü X540.....	13
Resim 2.3. Spermatogenik seri hücreler X400	15
Resim 3.1. Deney hayvanlarının kafeslerde gruplandırılması.....	39
Resim 3.2. İntraperitoneal enjeksiyon	39
Resim 3.3. Anestezi ve ağırlık tartımı	40
Resim 3.4. Testislerin çıkarılması.....	40
Şekil 3.5. Çalışmanın planının şema ile gösterimi.....	45
Resim 4.1. Kontrol grubu X40.....	48
Resim 4.2. Kontrol grubu X100.....	49
Resim 4.3. Kontrol grubu X200.....	49
Resim 4.4. Kontrol grubu X400.....	50
Resim 4.5. Kontrol grubu X1000.....	50
Resim 4.6. Taşıyıcı grubu X40	51
Resim 4.7. Taşıyıcı grubu X100	52
Resim 4.8. Taşıyıcı grubu X200	52
Resim 4.9. Taşıyıcı grubu X400	53
Resim 4.10. Taşıyıcı grubu X1000	53
Resim 4.11. LSEO grubu X40.....	54
Resim 4.12. LSEO grubu X100.....	55
Resim 4.13. LSEO grubu X200.....	55
Resim 4.14. LSEO grubu X400.....	56
Resim 4.15. CdCl ₂ grubu periferik bölge X40.....	57
Resim 4.16. CdCl ₂ grubu merkezi bölge X40	57
Resim 4.17. CdCl ₂ grubu periferik bölge X100.....	58
Resim 4.18. CdCl ₂ grubu merkezi bölge X100	58
Resim 4.19. CdCl ₂ grubu periferik bölge X200.....	59
Resim 4.20. CdCl ₂ grubu merkezi bölge.X200	59
Resim 4.21. CdCl ₂ grubu periferik bölge X400.....	60
Resim 4.22. CdCl ₂ grubu merkezi bölge. X400	60
Resim 4.23. CdCl ₂ grubu periferik bölge X1000.....	61
Resim 4.24. LSEO + CdCl ₂ grubu periferik bölge X40.....	62

Resim 4.25. LSEO + CdCl₂ grubu merkezi bölge X40	62
Resim 4.26. LSEO + CdCl₂ grubu periferik bölge X100	63
Resim 4.27. LSEO + CdCl₂ grubu merkezi bölge X100	63
Resim 4.28. LSEO + CdCl₂ grubu periferik bölge X200	64
Resim 4.29. LSEO + CdCl₂ grubu merkezi bölge X200	64
Resim 4.30. LSEO + CdCl₂ grubu periferik bölge X400	65
Resim 4.31. LSEO + CdCl₂ grubu merkezi bölge X400	65



TABLolar DİZİNİ

Tablo 3.1. 100 ml için Davidson fiksativi hazırlanış oranları.....	41
Tablo 3.2. 100 ml için formalin fiksativi hazırlanış oranları.....	41
Tablo 3.3. Johnsen Testiküler Skor Tablosu	44
Tablo 4.1. Deney başlangıcında vücut ağırlığı ortalamaları. Aritmetik ortalama $\pm$ standart hata (SEM)	47
Tablo 4.2. Deney sonunda vücut ağırlıkları ortalamaları. Aritmetik ortalama $\pm$ standart hata (SEM)	47
Tablo 4.3. Johnsen Testiküler Skor Analizi Sonuçları. Aritmetik ortalama $\pm$ standart hata (SEM)	66
Tablo 4.4. Johnsen Skor analizi p değerleri	66
Tablo 4.5.Seminifer Tübül Çapı Ölçümü Değerleri. Aritmetik ortalama	67
$\pm$ standart hata (SEM).....	67
Tablo 4.6. Seminifer tübül çapı ölçümü p değerleri	67

1. GİRİŞ

Kadmiyum (Cd), metal kaplama endüstrisinde, nikel-kadmiyum pillerde, kimyasal gübrelerde, plastik ürünlerde, boyalarda bulunabilen ve çevreyi kirleten bir maddedir. Kadmiyum tütün dumanında da bulunur. Kadmiyum toprağı ve suyu kolayca kirletebilir ve daha sonra besin zincirinin ilk halkası olan bitkilere geçebilir. İnsanlar ve hayvanlar, kadmiyum ile kirlenmiş tarım ürünlerini tüketerek veya solunum yoluyla bu toksik metali alabilirler. Kadmiyumun en tehlikeli özelliğı biyolojik yarı ömrünün uzun olmasıdır. Hayat boyunca birikerek organizmaya zarar verir. Kadmiyum zehirlenmesi nefrotoksisite, hepatotoksite, akut respiratuar distres sendromu, osteoporoz, kardiyovasküler hastalıklar, ovaryum ve testis hasarı, prostat ve testis kanserleri ile nörodejeneratif hastalıklara yol açabilir. Gebelerde erken doğumlara ve düşük doğum ağırlıklı doğumlara neden olabilir (Rani vd., 2014; Winiarska-Mieczan, 2015). Kadmiyum lipid peroksidasyonu ile hücresel membran yapısını değıştiren serbest radikaller oluşturarak ve antioksidan savunma sistemini bozarak oksidatif strese yol açar (Akunna, 2017). Kadmiyum ayrıca genotoksisite gösterir. Hücre proliferasyonunu ve farklılaşmasını, hücre siklusunun ilerlemesini, DNA sentezini, apoptozu ve diğere hücresel aktiviteleri etkiler. DNA onarımını da inhibe eder. Genotoksik etkileri oksidatif stresle birlikte kanser oluşumuna neden olur (Rani vd., 2014). Diğere organlarla karşılaştırıldığında, erkek gonadları olan testisler, aktif hücre bölünmeleri ve metabolizmaları nedeniyle toksik maddelere karşı daha savunmasızdır (Zini vd., 2009). Çeşitli çalışmalar Kadmiyum'a maruz kalan memelilerde testislerde vasküler endotel hücrelerinin, Leydig hücreleri ve Sertoli hücrelerinin, hücrelerarası bağlantıların, kan-testis bariyerinin (KTB) bozulmasına, germ hücre kaybına, testis ödemeine, inflamasyona ve steriliteye neden olduğunu göstermiştir (Rani vd., 2014; Janecki vd., 1992; Siu vd., 2009). Kadmiyumun KTB'yi spesifik sinyal iletim yolları ve p38 mitojenle aktive olan protein kinaz (MAPK) gibi sinyal molekülleri yoluyla bozduğı üzerinde durulmaktadır (Al-Azemi vd., 2010).

Erkek üreme organları olan testisler skrotumun içinde bulunur, sperm hücrelerinin yanı sıra testosteron sentezler ve salgırlar. Sperm üretimi, testislerdeki seminifer tübüllerin içinde gerçekleşir. Testosteron üretimi ise seminifer tübüllerin arasındaki intersitisyel dokuda yer alan Leydig hücresinde olur. Sperm hücreleri oluştuktan sonra,

tübüllerden olgunlaştıkları ve ejakülasyona hazırlandıkları epididimise doğru hareket eder. Spermatogenez sürecinde testislerin maruz kalabileceği toksik maddeler tüm sürecin başarısız olmasına neden olabilir. Bu durum, kusurlu veya azalmış sperm üretimine yol açabilir. Daha ağır koşullarda ise infertiliteye neden olabilir (de Kretser vd., 1988). İnfertilite, gelişmiş sanayilere sahip ülkelerde giderek artmaktadır. Dünya çapında çiftlerin yaklaşık %10-15'ini etkilemektedir (Walczak-Jedrzejowska vd., 2013). İnfertilitede çevresel faktörlerin rolü bulunmaktadır. Bunlar içinde çeşitli kimyasallar, ağır metaller, böcek ilaçları, ısı veya elektromanyetik radyasyona maruz kalma vb. sayılabilir. İnsanlar yaşamlarının farklı dönemlerinde çeşitli türlerde çevresel faktörlere maruz kalır ve bunların çoğu zararlıdır (Walczak-Jedrzejowska vd., 2013; Thonneau vd., 1998). Ayrıca beslenme şekli, sigara, alkol kullanımı, kronik stres, obezite, ürogenital travma ve erkek üreme sistemindeki inflamasyon da azalmış erkek fertilitesi ile ilişkilidir (De Celis vd., 1996; Agarwal vd., 2009, Tunc vd., 2011). Bu faktörlerin çoğu oksidatif strese neden olur. Oksidatif stres, reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimi ile bunların nötralizasyonundan ve uzaklaştırılmasından sorumlu antioksidan sistemin koruyucu etkisi arasındaki dengesizlikten kaynaklanır. Fazla ROS, hücre ve dokulara zarar veren patolojik bir tepkiye neden olur. Spermatozoa, ROS'un zararlı etkilerine çoğu hücreden daha fazla duyarlıdır çünkü hücre membranı, oksitlenebilen (lipid peroksidasyonu) büyük miktarlarda doymamış yağ asitleri içerir ve sitoplazması, ROS'u nötralize edebilen enzimlerin yalnızca küçük konsantrasyonlarına sahiptir. Lipid oksidasyon süreci, zar bütünlüğünün kaybına ve geçirgenliğinde bir artışa, hücresel enzimlerin inaktivasyonuna, yapısal DNA hasarına ve hücre apoptozuna yol açar. İnfertil erkeklerin yaklaşık %25'inin spermalarında yüksek ROS seviyeleri ve sıklıkla düşük antioksidan kapasitesinin olduğu yönünde çalışmalar vardır (Lewis ve vd., 1997; Smith ve vd., 1996).

Kadmiyum toksisitesinden korunmak için doğal ürünlerin kullanılması yönünde çalışmalar yapılmaktadır. Deneysel kanıtlar, vitaminler ve antioksidan gibi farklı takviyelerin çeşitli dokular üzerindeki Kadmiyum hasarına olumlu etkilerini doğrulamıştır (El-Demerdash ve vd., 2004; Wong ve vd., 2001).

Lavandula stoechas, Labiatae (Lamiaceae) familyasının önemli bir üyesidir. Lavandula türleri Akdeniz bölgesinde yaygın olarak dağılmıştır. Fransa, İspanya, Türkiye ve İtalya'da yetiştirilmektedir. Türkiye'de başlıca iki tür, *Lavandula stoechas* ve *Lavandula angustifolia* yetiştirilir. Bitkinin tıbbi önemi iyi belgelenmiştir ve bu bitkiden hazırlanan ilaçlar birçok Farmakope'de kayıtlıdır. Bitki mukolitik, antispazmodik ve

dezenfektan olarak kullanılır (Gören ve vd., 2002). *Lavandula stoechas* içerdiği fitokimyasalların insülin rezistansı ve inflamasyonu önleyici etkileri gösterilmiştir (Kulabaş vd., 2018). Bu bitki yüksek aktif bileşik içeriği, antioksidan ve antiinflamatuvar etkileri nedeniyle terapötik olarak birçok yararlı etki sunar (Gamez vd., 1998). Birçok araştırma *Lavandula stoechas* uçucu yağlarının 1,8- cineole, linalool, linalyl acetate, fenchone, camphor, valencene, α -piene ve β -phellandrenenin bu bitkinin karakteristik bileşikleri olduğunu göstermiştir. Ancak esansiyel yağların bileşimi esas olarak iklimsel ve coğrafi koşulların yanı sıra genetik farklılıklara göre değişebilmektedir. Yakın zamanda yapılan çalışmalarda *Lavandula stoechas* esansiyel yağlarının (LSEO) kandaki glisemik seviyeyi düşürme ve sıçanlarda alloksanın neden olduğu oksidatif strese karşı koruma kapasitesine sahip olduğu gösterilmiştir (Sebai vd., 2013, Sebai vd., 2015). Ek olarak, LSEO takviyesinin özellikle sıçanlarda insektisit intoksikasyonu ile indüklenen lipid metabolik parametrelerin bozulmasına karşı koruduğu bildirilmiştir (Selmi vd., 2015).

Kadmiyum ile oluşmuş testis hasarında çeşitli vitamin ve antioksidan ürünlerin koruyucu etkilerini gösteren araştırmalar olmakla birlikte, literatürde LSEO'nun Kadmiyum ile oluşan testis hasarına etkisini gösteren bir çalışma bulunmamaktadır. Çevresel olarak maruz kalınan kadmiyumun hücre ve dokular için toksik olması ve birikerek organizmada kronik hasar oluşturmaları nedeniyle Kadmiyum ile ilgili bilimsel araştırmalar önem arz etmektedir. Bu çalışmada, çevresel olarak maruz kalınan kadmiyumun testisler üzerindeki etkisinden korunabilmek için LSEO'nun deneysel olarak fayda gösterip göstermeyeceğinin araştırılması hedeflenmiştir.

Bu çalışmanın amacı, $CdCl_2$ ile sıçanlarda oluşacak testis hasarı üzerine LSEO'nun olası koruyucu etkilerinin histokimyasal olarak araştırılmasıdır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Testis Anatomisi

Skrotum içerisinde bulunan spermatoza ve cinsiyet hormonlarının üretildiği, yaklaşık 4 cm uzunluğunda 2,5 cm kalınlığında ve her biri yaklaşık 10-15 gram ağırlığında olan yumurta şeklinde bir çift organdır. Funiculus spermaticus'a asılı şekilde skrotum içinde bulunurlar. İki yüzü (fasiyes lateralis ve medialis), iki kenarı (margo anterior ve posterior) ve iki ucu (extremitas superior ve inferior) vardır. Sol testis sağa göre biraz daha aşağıdadır. Testisler fetal yaşamda karın boşluğu içinde retropenitoneal olarak fascia transversalis ile periton arasında gelişir. Ancak doğumdan önce gubernakulum testis adı verilen bir yol izleyerek canalis inguinalis'ten geçer ve skrotuma iner. İnerken karın ön duvarı tabakalarını da sürükler.

Testisler, tunica albuginea adı verilen sert bir bağ dokusu kılıfı ile çevrilidir. Arka kenarına epididimis tutunur ve burada mediastinum testis bulunur. Buradan testisin damar ve sinirleri girip çıkar. Tunica albuginea uzantıları testisi lobüllere ayırır. Her lobülde bir veya birkaç kıvrılmış tubuli seminiferi contorti ve bunların birleşmesiyle oluşan düz seyirli bir veya birkaç kıvrılmış tubuli seminiferi contorti ve bunların birleşmesiyle oluşan düz seyirli tubuli seminiferi recti'ler görülür. Bu tübüller arkada rete testis denilen plexusu meydana getirirler. Rete testislerden çıkan 10-12 adet ductuli efferentes, epididimis'in başına girer ve tek bir kanal haline gelir (Arifoğlu, 2019)

2.2. Testis Embriyolojisi

Embriyonun genetik ve kromozomal cinsiyeti döllenme anında yumurtayı döleyen spermin cinsine (X veya Y) göre belirlense de erkek ve dişi morfolojik özellikleri embriyonun ancak 7. Haftasında gelişmeye başlar. İlk aşamada, cinsel organlar her iki cinsiyette de benzerdir, bu nedenle genital gelişimin ilk aşamasına, cinsel gelişimin farklılaşmamış aşaması denir. (Moore, Persaud ve Torchia, 2016).

2.2.1. Gonadların Gelişimi

Gonadlar seks hücrelerini (sperm ve oosit) üretirler ve üç kaynaktan köken alırlar. Posterior abdominal duvarı döşeyen mezotel, altındaki mezenkimal doku ve primordiyal germ hücreleri.

Gonadal gelişimin ilk safhaları mezonefrozun medialinde mezotelyal bir kalınlaşmanın primitif böbrek gelişimi ile 5. Haftada başlar. Bu epitelin ve altındaki mezenkimin proliferasyonu ile mezonefrozun medialinde bir kabarıklık gonadal kabartı oluşur. Parmak şeklindeki epitel şeritleri kordonlar sürede gonadların altındaki mezenkim içine doğru büyür. Farklılaşmamış gonad artık bir dış korteks ve bir iç medulladan oluşur. Embriyo XX cinsiyet kromozomu kompleksine sahipse, farklılaşmamış gonadın korteksi bir overe farklılaşır ve medullası geriler. Embriyo cinsiyet kromozomu kompleksi XY'yi içerdiğinde, medulla testise farklılaşır, korteks geriler ve bazı kalıntılar dışında dejenere olur. (Moore, Persaud ve Torchia, 2016).

2.2.2. Primordiyal Germ Hücreleri

Bu büyük küresel primitif gametler, fertilizasyondan 2 gün sonra allantoisin orijinine yakın endoderm hücreleri arasındaki umblikal kese duvarında belirir. Öte yandan, primordiyal germ hücreleri arka bağırsağın dorsal mezenterinden gonadal kabartılara kayarlar. 6. Haftada primordiyal germ hücrelerinin altındaki mezenşimin altına girerler ve gonadal kordona katılırlar. (Moore, Persaud ve Torchia, 2016).

2.2.3. Cinsiyet Belirlenmesi

Cinsiyet X kromozomu taşıyan bir yumurtanın döllenmesine bağlıdır ve X veya Y kromozomu taşıyan sperm ile kalıtılır. Gonadların 7 haftadan önceki görünimleri her iki cinsiyette de aynıdır ve farklılaşmamış gonadlar olarak adlandırılırlar. Erkek fenotipinin gelişimi için XY kromozomu gereklidir. Testis belirleyici faktör için gerekli olan SRY geninin Y kromozomunun kısa kolunda yer aldığı tespit edilmiştir. Y kromozomu tarafından düzenlenen testiküler belirleyici faktör (TBF), testis farklılaşmasına aracılık eder. Bu organizasyonel faktörün etkisi altında, cinsiyet kordonları spermatik kordlara farklılaşır. Spermatid oluşumu Sox-9 ve Fgf-9 genlerinin ekspresyonu ile sağlanır. Y kromozomunun olmaması overlerin gelişmesine yol açar. Dişi fenotipinin gelişimi için iki X kromozomu gereklidir. X kromozomunun birçok geni ve bölgesi, cinsiyet belirlemede özel bir rol oynar. Buna göre, cinsiyet kromozomu

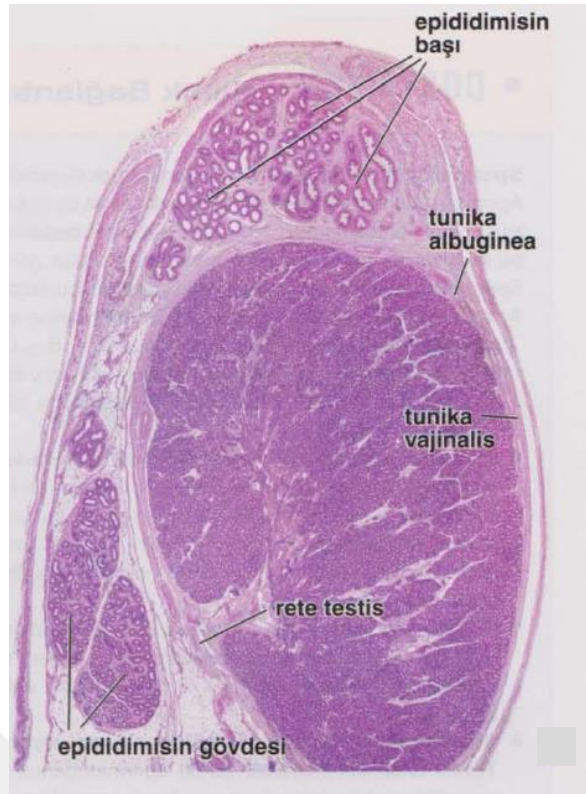
kompleksinin tipi, farklılaşmamış gonadların gelişeceği yönü belirleyen fertilizasyon ile belirlenir. Fetal testislerin ürettiği testosteron, dihidrotestosteron ve anti-Mullerian hormonu (AMH), erkek cinsiyetin 7. Haftadan itibaren normal gelişimini belirler. Dışide primer cinsiyet farklılaşması hormonlara bağlı değildir; overler olmadığında dahi, dişiliğin oluşması, hormonal bir etkinin olmadığını gösterir (Moore, Persaud ve Torchia, 2016).

2.2.4. Testislerin gelişimi

TBF, spermatik kordları uyarır ve bunların medullanın farklılaşmamış gonadlarına doğru uzamasına neden olur, burada kordlar dallanıp birleşerek rete testis'i oluşturur. Kalınlaşmış bir kapsül olan tunika albuginea gelişmesinden sonra, seks kordonlarının spermatik kordların yüzey epiteli ile bağlantısı kaybolur. Mezonefrostan ayrılan genişlemiş testis yavaş yavaş dejenere olur ve mesenterisi olan mesorchium tarafından askıya alınır. Spermatik kordlar seminifer tübüllere, tubuli recti ve rete testise ayrılır. Seminifer tübüller, interstisyel hücreleri (Leydig hücreleri) oluşturan mezenşim ile ayrılır. 8. Haftadan itibaren Leydig hücreleri, dış cinsiyet organlarının erkek farklılaşma sürecini uyararak erkek hormonları testosteron ve androstenedion salgılamaya başlar. İnsan koryonik gonadotropin hormonu, miktarı 8-12 haftalık bir süre içinde zirve değerine ulaşan testosteron üretimini uyarır. Testosterona ek olarak, fetal testisler AMH adı verilen bir hormon, bir glikoprotein hormonu veya müllerian inhibitörü salgılar. AMH, Sertoli hücreleri tarafından salgılanır, hormonun salınımı ergenliğe kadar devam eder ve sonrasında seviyeleri giderek azalır. AMH, uterus duvarını ve uterusun fallop tüplerini ayıran paramedian (Mullerian) kanalların büyümesini engeller. Seminifer tübüller ergenliğe kadar katı kalır (yani lümenleri yoktur) ve ergenlikten itibaren lümen genişler. Seminifer tübül duvarında iki tip hücre vardır: Destekleyici hücreler olan Sertoli hücreleri, testislerin yüzey epitelinden gelişir. Spermatozoa yani primordial spermatozoa olan bu hücreler, primordial germ hücrelerinden ayrılır. Fetal testislerde Seminifer tübüllerin büyük çoğunluğunu Sertoli hücreleri oluşturur. Daha sonraki fetal gelişim sırasında, testisin yüzey epiteli düzleşir ve olgun testisin dış yüzeyinde mezotel hücreleri oluşturur. Rete testis, duktulieffrentes'i oluşturan 15 ila 20 mezonefrik tübül ile devam eder. Bu duktuliler, duktus epididimis'i oluşturan mezonefrik duktus ile bağlanırlar (Moore, Persaud ve Torchia, 2016).

2.3. Testis Histolojisi

Testisler, skrotum ile testisler arasında yer alan ve üç tabakalı testis kapsülü adı verilen bir yapı ile çevrilidir. Bu kapsül dıştan içe sıralanmıştır; Tunica vaginalis, tunica albuginea ve tunica vaskularis. Testisler karın boşluğunda gelişirken kan ve lenfatik damarları, otonom sinirleri ve en önemlisi peritonun bir uzantısı olan tunika vajinalisi taşıyarak skrotuma inerler. Tunica vaginalis, testisin anterolateral yüzeyindeki periton ‘den kaynaklanan seröz bir kesedir. Mezotelyum ile kaplıdır ve peritonun visseral ve paryetal tabakaları olmak üzere 2 tabakadan oluşur. Pariyetal yaprak, skrotumun iç yüzeyinde bulunur. Bu tabaka dışında diğer tabakalar arasında karın duvarının kas tabakasından inen ince bir çizgili kas tabakası olan m. Kremaster yer alır. Tunica albuginea, her testisi çevreleyen çok kalın ve sıkı bir fibroelastik bağ dokusu kapsülüdür (Şekil 2.1). Tunica albuginea tabakası testisin arka yüzeyi boyunca kalınlaşır ve içeri doğru devam ederek testiküler mediasteni oluşturur. Testiküler mediasten, kan, lenfatikler ve genital kanalların testislere girip çıktığı yerdir. Kapsülün içinde, tüm lobları dışarıdan çevreleyen bol miktarda kan damarı içeren gevşek bir bağ dokusu yapısı olan bir tunica vasculosa bulunur. Testistiküler kapsül, periyodik kasılmalar gerçekleştiren dinamik bir yapıdır. Bu kasılmalar, testis hacmini düzenler ve kanal sistemlerine masaj yaparak spermin hareket etmesine yardımcı olur. Her testis, kapsülden uzanan fibröz septa ile yaklaşık 250-300 piramidal loblara bölünmüştür. Lobların hacmi bulunduğu yere göre değişir, ortadakiler iri ve uzundur. Lobüller içindeki kıvrımlı tübüllerin (tubuli seminiferi contorti) uç kısımları mediastinal bölgede kısalır ve düzleşerek düz tübül (tubuli recti) oluşturur. Bu düz tübüller mediastene girerken anastomoz yaparak rete testis oluştururlar. Testislerin kanalları, 10-20 ductuli eferentes ile epididimin başını oluşturur. Her lob; İnterstisyel hücreleri içeren tunica vasculosa’dan farklı olarak kan ve lenfatik damarlar, sinirler, 1-4 kör uçlu seminifer tübüller ve bu tübülleri çevreleyen oldukça vaskülarize bağ dokusundan oluşur. Tunica propria veya peritübüler doku olarak da adlandırılan bu bağ dokusu, epitelyal bazal membranın altında yer alır ve tipik fibroblastlar yerine bir miyoid hücre tabakası ve bir kollajen lif tabakası içeren 2-3 tabakalı bir yapı şeklini alır. Seminifer tübüllerin bitişiğinde, bezin stromasını oluşturan interstisyel doku (interstisyum) adı verilen bikonkav bir yapı vardır. Bu gevşek bağ dokusu, fibroblastlar, mast hücreleri, makrofajlar gibi hücrelerin yanı sıra Leydig hücreleri, sinüzoidal kan damarları, lenfatik damarlar ve sinir lifleri içerir. Sperm seminifer tübüllerde üretilirken, interstisyel bağ dokusundaki Leydig hücreleri testosteron üretip salgılar (Kuruş, 2020).

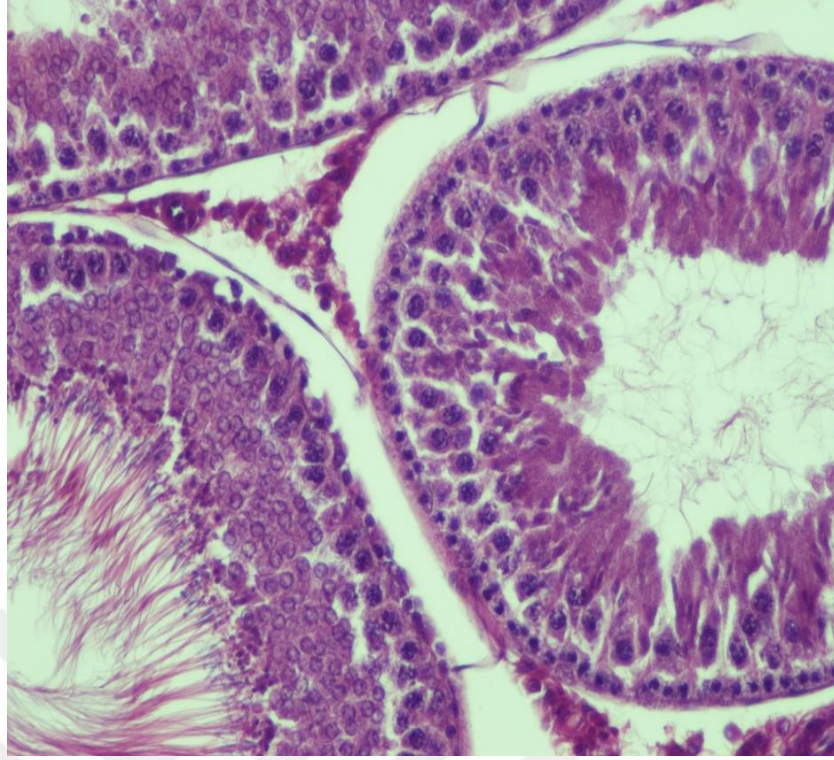


Kaynak: Ross ve Pawlina, 2014

Şekil 2.1. Testis genel histolojik görünümü

2.3.1. Seminifer Tübüller

Seminifer tübüller, testislerin hacminin çoğunu oluşturur. 30-80 cm uzunluğunda, 150-250 μm kalınlığında ve kıvrımlı kanallardır. Seminifer tübülleri kaplayan germinal epitel, iki farklı hücre grubu içeren çok katlı bir epiteldir; spermatogenik hücreler ve Sertoli hücreleri (Resim 2.1). Epitelin altındaki tunica propria özel bir bağ dokusudur. Fibroblast içermeyen bu tabaka, insanlarda germinal epitelin bazal membranının altında 3 ila 5 sıra peritübüler myoid hücre ve kollajen liflerinden oluşan bir tabaka içerir. Bu doku peritübüler doku olarak adlandırılır. Myoid hücreler, elektron mikroskobu altında, düz kas hücrelerine benzer şekilde, bazal lamina ile çevrelenmiş aktin filamentinden zengin hücreler olarak görülebilir. Bu hücrelerin kasılması, olgun spermin tübül lümenindeki kanala yönlendirilmesini sağlar. Bağ dokusunun kolajen lifleri de bu hücreler tarafından sentezlenir ve salgılanır (Eşrefoğlu, 2016).



Resim 2.1. Seminifer tübüller H-E boyama X200

2.3.2. Seminifer Epitel

Testisin en iç tabakası olan seminifer tübül duvarı germinal epiteldir ve modifiye çok katlı epitel özelliği gösterir. Germinal epitel; Sertoli hücreleri ve spermatogenik hücreler olmak üzere 2 farklı hücre grubundan oluşur. Epitelin dayandığı bazal lamina, elastik lifler açısından zengindir ve yaşla birlikte kalınlaşır. Bazal laminanın dışında ise peritübüler miyoid hücrelerden zengin peritübüler doku bulunur. Sperm, epididimis kanalından geçtikten sonra ileri hareketlilik kazanır. Germinal epitelin yapısı, seminifer tübüllerin kavisli veya düz olmasına bağlıdır. Germinal epitelin hücresel bileşiminde farklılıklar gözlenmekle birlikte, epitelin kalıcı somatik bileşenleri Sertoli hücreleridir. Germinal epitel, vücudun herhangi bir tabakalı epitelinde bulunmayan olağandışı özelliklere sahip bir epitel olarak sınıflandırılabilir. Bu tabakalı epitelde, Sertoli hücreleri, spermiyogenez adı verilen bir farklılaşma sürecinde mitotik olarak bölünen spermatogonia, mayotik spermatosit ve spermatidlerle etkileşime girer. Germinal epitelin döngüsü, belirli bir süre boyunca tübülün her bölgesinde meydana gelen değişiklikleri tanımlar (Kuruş, 2020).

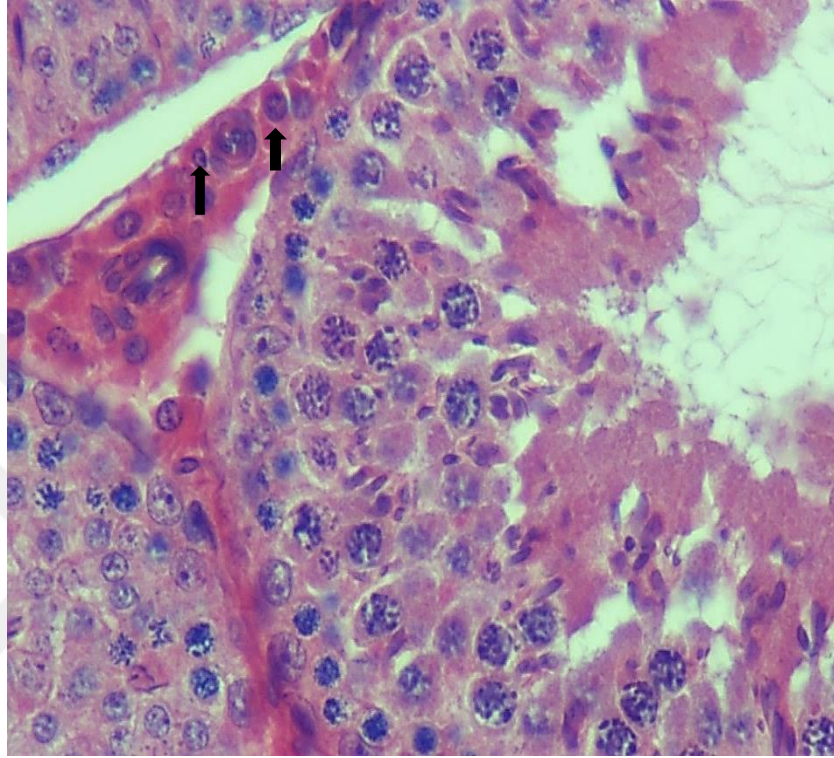
2.3.3. Peritübüler Miyoid Hücreler

Mezenkimal kaynaklı peritübüler miyoid hücreler, seminifer tübülleri çevreler. Tübülleri sağlam tutmak için destekleyen ve onlara kasılma yeteneği vererek hareketsiz sperm içeren testis sıvısının taşınmasına yardımcı olan hücrelerdir. Ultrastrüktürel düzeyde, kesintisiz bazal laminaları ve çok sayıda aktin-miyozin filamentleri ile düz kas hücresi özellikleri gösterirken, yoğun granüler endoplazmik retikulum (rER) sayesinde kollajen lifi sentezleyerek fibroblast hücreleri gibi işlev görürler. Peritübüler miyoid hücreler, Sertoli hücre fonksiyonlarının parakrin regülasyonunda yer alır. Miyoid hücreler tarafından üretilen Pmod'lar (peritübüler modifiye Sertoli), Sertoli hücreleri tarafından transferrin, inhibin ve androjen bağlayıcı proteinin salgılanmasını modüle eden bir moleküldür. Sertoli hücre fonksiyonunu düzenleyen miyoid hücreler tarafından üretilen diğer faktörler arasında IGF-1, nFGF ve bazı interlökinler bulunur. Peritübüler miyoid hücreleri, KTB'nin oluşumundan ve sürdürülmesinden sorumlu olan fibronektin, kollajenler, proteoglikanlar ve entaktin salgılar (Kuruş, 2020).

2.3.4. Leydig Hücreleri

Leydig hücreleri, seminifer tübüller arasındaki boşlukta tek başlarına veya gruplar halinde, genellikle üçgen kümeler halinde, kan damarlarına yakın konumlarıyla ayırt edilen büyük hücrelerdir (Resim 2.2). Testis hacminin yaklaşık %12'sini oluştururlar. Buradaki en önemli steroidojenik hücreler olarak kolesterolden androjen üreten hücrelerdir. Leydig hücreleri, morfolojik olarak eozinofil boyayan, büyük bir merkezi nükleus'a sahip büyük poligonal hücredir. Hücrelerde çok sayıda tubulovesiküler kristalli mitokondri, düz bir endoplazmik retikulum (sER), iyi gelişmiş bir Golgi kompleksi ve sitoplazmalarında bol miktarda lipid damlacıkları bulunur. Gelişim sırasında ortaya çıkan iki farklı Leydig hücresi popülasyonu vardır: fetal ve yetişkin Leydig hücreleri. Fetal Leydig hücreleri, erkek ürogenital sisteminde farklılaşmanın indüklenmesinden, gonadların normal gelişiminden ve testislerin inişinden sorumludur. Erkek fetüsün ilk üç aylık döneminden 5. Ayına kadar aktiftirler. Bu süreçte plasental kaynaklı gonadotropinlerin kan yoluyla fetal testislere ulaşması ve Leydig hücrelerini uyarması sonucu fetal Leydig hücreleri testosteron üretmeye başlar, plaseenta olmadığı için doğumdan sonra atrofiye uğrarlar. Yenidoğanlarda testiküler steroidogenez doğumdan sonraki 2-3 ay içinde zirve yapar ve azalır. Dinlenme halindeki Leydig hücreleri fibroblastlara çok benzediği için onları onlardan ayırmak zordur. Yetişkin Leydig hücreleri, doğumdan sonra farklılaşmamış progenitör hücrelerden türetilir ve pubertede

gonadotropik uyarı ile tamamen steroidojenik hale gelir. Bu hücrelerden salgılanan testosteron pubertede sperm üretiminin başlamasından, yardımcı genital bezlerin salgılanmasından ve sekonder cinsel özelliklerin gelişmesinden sorumludur. Her iki Leydig hücre popülasyonunun farklılaşması, parakrin faktörler ve endokrin hormonlar tarafından kontrol edilir. (Kuruş, 2020).

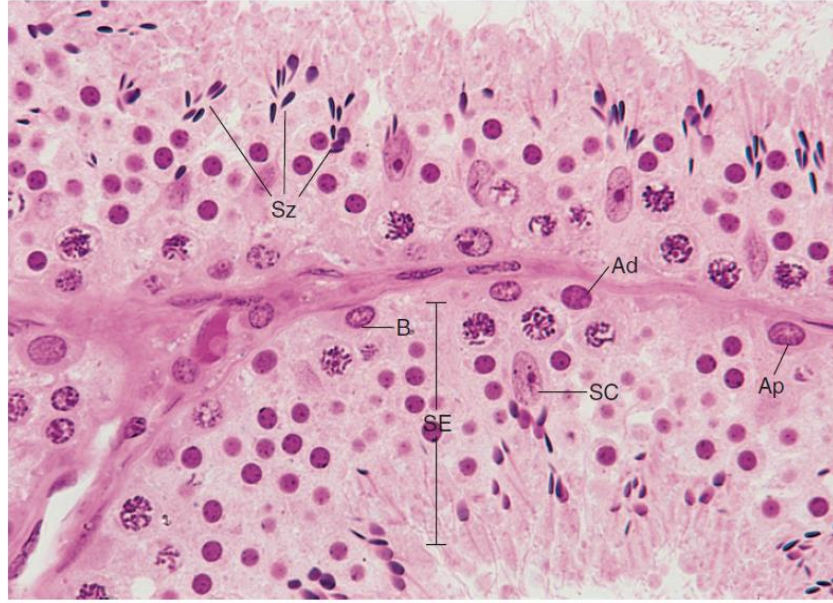


Resim 2.2. Leydig hücreleri (ok işareti) H-E boyama X400

2.3.5. Sertoli Hücreleri

Sertoli hücreleri, gelişen spermi destekleyen, koruyan ve besleyen önemli hücrelerdir. Ayrıca tamamen farklılaşıp olgunlaşmamış spermatogenik hücreleri fagosite edebilirler. Spermatogenik hücrelerden farklı olarak, bu hücreler bölünme yeteneğine sahip değildir. Bazal membrandan lümene uzanırlar. Bazal sitoplazmasında belirgin nükleolus yuvarlak veya üçgen ökromatik çekirdekler gözlenir. Organel yönünden zengin hücrelerdir ve iyi gelişmiş rER ve sER, belirgin Golgi kompleksi, bol miktarda mitokondri, lizozom, lipid damlacıkları ve glikojen granülleri içerirler. İnsanlarda bu hücrelerin bazal sitoplazmalarında Chracot-Böttcher cisimcikleri adı verilen özel inklüzyonlar bulunur. Spermatozoa başları, Sertoli hücrelerinin soluk renkli sitoplazmalarının apikal kısımlarında gelişir. Sertoli hücrelerinin sınırlarını ışık mikroskobu altında ayırt etmek zordur. Çünkü bu hücrelerin spermatogenik hücreleri çevreleyen birçok yanal uzantıları vardır. Komşu Sertoli hücreleri, birleşme kompleksleri

ile birbirine bağlanır. Bu özel bağlantı birimi, bitişik zarlar arasında 50'den fazla paralel füzyon bölgesi içeren zonula oklüdens tipi bir bağlantıdır. Bunun dışında Sertoli hücreleri arasında gap junction tipi bağlantı kompleksleri, Sertoli hücreleri ile erken spermatogenik hücreler arasında desmozom benzeri bağlantı kompleksleri ve Sertoli hücreleri ile bazal lamina arasında hemidesmozom vardır. Spermatogenik hücreler, Sertoli hücrelerinin yanıl uzantılarının oluşturduğu bölmelerde bulunur. Sertoli hücrelerinin birleşmesi ile oluşan epitel bölmeleri, bazal kısımda spermatogonia ve erken primer spermatositleri, luminal kısımda ise daha olgun spermatositleri ve spermatidleri içerir (Şekil 2.2). Spermatogenik hücreler bölünüp olgunlaştıkça, lümene ulaşmak için Sertoli hücreleri arasındaki bağlantı komplekslerinin oluşturduğu engelleri aşmaları gerekir. Sertoli hücreleri arasındaki bağlantı kompleksleri, spermatogenik hücre içeren epitelyal alanları ve ayrıca KTB adı verilen önemli bir bariyeri oluşturur. Seminifer tübüllerin iyon, amino asit, karbonhidrat ve protein içeriği kan ve lenften önemli ölçüde farklıdır. Bu farkı KTB sağlamaktadır. KTB, erkek üreme hücrelerini kana giren zararlı maddelerden korur. Bu bariyer sayesinde genetik çeşitlilikleri nedeniyle bağışıklık sistemi tarafından antijen olarak kabul edilen haploid germ hücreleri (sekonder spermatositler, spermatidler ve sperm hücreleri) insan bağışıklık sisteminden izole edilir. Sertoli hücreleri tarafından sentezlenen androjen bağlayıcı protein, yüksek testosteron seviyelerine bağlanır. Testosteron, spermin farklılaşmasını ve olgunlaşmasını sağlayan çok önemli bir hormondur. Folikül stimüle hormon (FSH) salınımını baskılayan inhibin, plazminojen aktivatörleri ve transferrin de bu hücrelerde sentezlenir (Eşrefoğlu, 2016).



Kaynak: Gartner 2017

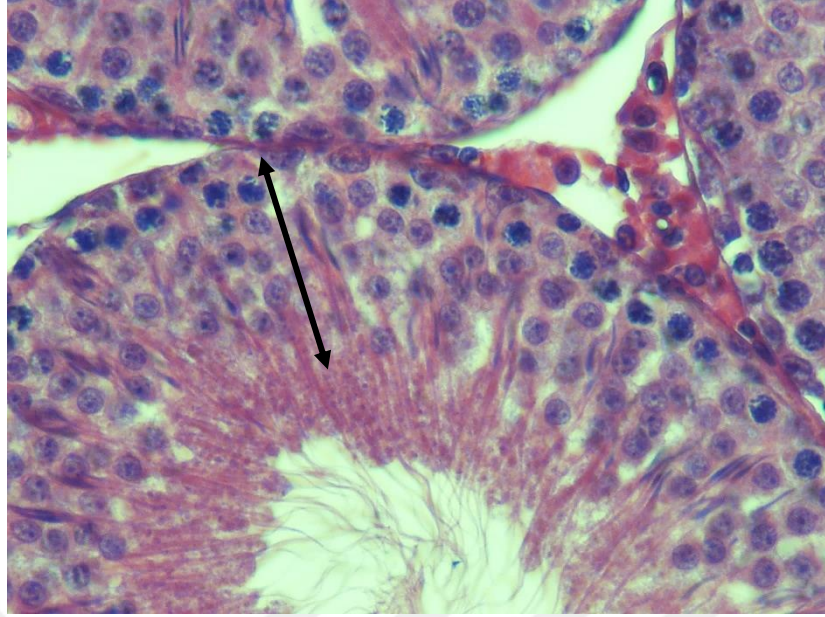
Şekil 2.2. Seminifer tübül görüntüsü. Seminifer epitel (SE), Tip A açık spermatogonyum (Ap), Tip A koyu spermatogonyum (Ad), spermatogonyum B (B), Sertoli hücresi (SC), ve spermatozoa (Sz) X540

2.3.6. Spermatogenik Hücreler

Seminal epiteldeki ikinci hücre grubu, buradaki hücre yoğunluğunun da büyük bölümünü oluşturan spermatogenik hücreleridir. Bu hücreler, Sertoli hücrelerinin sitoplazmik çöküntülerinde düzenli bir şekilde yerleşmiş, çeşitli olgunlaşma evrelerindeki hücrelerdir ve bazal bölmeden adluminal bölmeye ve oradan da luminal bölmeye ilerleyen olgunlaşma aşamaları boyunca adları ve yerleri değişir hücrelerdir (Şekil 2.3) (Kuruş 2020).

Seminifer tübüllerin enine kesitinde, spermatogenik hücreler birtakım özelliklerle birbirinden ayırt edilebilir. İnsanlarda spermatogenez ve spermiyogenez yaklaşık 9 haftada tamamlanır. Bu süre zarfında yaşanan tüm aşamaları tek bir tübülde görmek genellikle mümkün değildir. Bazal zarın hemen üzerinde yer alan spermatogonia, mitoz yoluyla diğer spermatogenik hücreleri oluşturan ana hücrelerdir. Temel özelliklerine göre üç tip spermatogonia tanımlanmıştır. Koyu tip A spermatogonia, ince granüler kromatin içeren yoğun bazofilik nükleuslu hücrelerdir. Bu hücrelerin, diğer spermatogenik hücelere yol açan kök hücreler olduğu düşünülmektedir. Farklı aralıklarla bölünerek koyu tip A spermatogonia veya açık tip A spermatogonia oluştururlar. Koyu tip A spermatogonyumlar kök hücre olarak kalırken, açık tip A spermatogonyumlar

farklılaşarak olgunlaşır ve sonunda spermiyum olur. Tip A açık spermatogonia, hafif lekeli, ince granüllü çekirdekleriyle koyu spermatogonia'dan farklıdır. Bu hücreler de birçok kez mitoz geçirir ve sayıları artar. Bu bölünmelerden sonra tip a spermatogonia, tip B spermatogonia'ya farklılaşır. Tip B spermatogonia, yuvarlak nükleuslu hücrelerdir. Tip B spermatogonia'nın görünümü, spermatogonia döneminin son olaylarını temsil eder. Bu hücreler bölünerek birincil spermatositleri oluşturur. Koyu tip A spermatogonyumun bölünmesiyle oluşan açık tip A spermatogonia, ince sitoplazmik uzantılarla bağlı kalır. Bu durum birbirini takip eden mitoz ve mayoz bölünmede de geçerli olduğundan, hücreler spermatid olgunlaşmasının son aşamalarına kadar karşılıklı bağımlılıklarını sürdürürler. Bir dizi bölünmeden sonra, A tipi spermatogonia'dan ortaya çıkan B tipi spermatogonia da mitozla bölünerek birincil spermatositleri oluşturur (Resim 2.3). Birincil spermatositler, oluştuktan hemen sonra DNA'larını eşleyerek mayoz için hazırlanırlar. Her birincil spermatosit, iki kat daha fazla kromozom ($4n$) ve iki kat daha fazla DNA içerir. Primer spermatositler mayoz geçirir. Mayozun profaz evresinde gözlenen kromatin yoğunlaşması nedeniyle bu hücrelerin nükleuslarında kromatin iplikçikleri görülebilir. Primer spermatositler, çekirdekleri ve büyük sitoplazmaları ile bu şekilde kolaylıkla tanınırlar. İnsanlarda profaz 22 gün sürer. Profazın sonunda 44 otozom ve bir çift cinsiyet kromozomu ortaya çıkar. Homolog kromozomlar, metafaz plakasıyla çiftler halinde sıralanır. Tetratlar arasında crossing-over gerçekleşir. Böylece tek bir spermatositten gelişen dört spermatid birbirinden ve diğer spermatidlerden farklı genetik özelliklere sahip olacaktır. Homolog kromozomlar ayrılır ve zıt kutuplara çekilir. Bu süre zarfında, kromozomların iki kromatidi birleştirilir. Kromozomların homolog çiftlerin kutuplarına çekilmesi rastgeledir. Anne ve baba kromozomlarının rastgele dizilişi genetik çeşitlilik açısından da önemlidir. İkincil spermatositler ikinci mayotik bölünmeye çok erken girdiğinden, bu hücreler bölümlerde nadirdir. İkincil spermatositler, birincil spermatositlere kıyasla küçük hücrelerdir. Bu hücreler, DNA sentezlemeden ikinci mayozun profazına girerler. 22 otozom ve bir cinsiyet kromozomu (X veya Y) içerirler, diploid sayıda DNA'ya sahiptirler. Bu kromozomların her birinin iki kardeş kromatidi vardır. Metafazda bu kromatitler ayrılır ve zıt kutuplara çekilir. Spermatositlerden, ikinci mayotik bölünmenin sonunda ikincil spermatidleri oluştur (Resim 2.3). Spermatidler, 23 kromozomlu ve normal DNA'nın yarısına sahip hücrelerdir. Yuvarlak veya çokgen, yoğun çekirdekli spermatidler, spermiyogenez olarak bilinen bir değişim aşamasına girerler. Bu nedenle çekirdekleri küçülür ve yoğunlaşır. Hücreler kuyruk oluşturarak spermatozoa haline gelir. (Eşrefoğlu, 2016; Ross ve Pawlina, 2014).



Resim 2.3. Spermatogenik seri hücreler X400

2.4. Testis Fizyolojisi

2.4.1. Testosteron Sentezi ve Salgılanması

Ergenlikten sonra, ön hipofiz bezi siklik adenozin monofosfat aracılı mekanizma ile uyarılır ve Leydig hücreleri, buradan salgılanan lüteinizan hormon (LH) ile dihidrotestosterona dönüştürülebilir testosteron üretir. Testosteron; Sertoli hücreleri üzerindeki androjen reseptörüne bağlanarak spermatogenez ve erkek libidosunu etkileyen bir hormondur. LH sekresyonu üzerinde negatif geri besleme etkisi vardır. Testosteron seminal veziküller üzerinde daha etkilidir, dihidrotestosteron ise sertoli hücreleri dışında prostat üzerinde daha etkilidir. Prolaktin, LH reseptörünün ifadesini düzenler. Serumdaki testosteronun yaklaşık $\frac{1}{4}$ 'ü Leydig hücreleri tarafından sentezlenirken geri kalanı, cinsiyet hormonu bağlayıcı globulin ve diğer proteinlere bağlı olarak adrenal korteks tarafından sentezlenir. Kolesterolde testosteron sentezlemek için gerekli olan enzimler bu hücrelerin sER'lerinden sağlanır. Testosteron sentezi sırasında, plazma kolesterolü hücreye girer, asetil koenzim A tarafından esterleştirilir ve sitoplazmada lipid damlacıkları olarak depolanır. sER'de yağ asitleri kolesterol 'ye dönüştürülür. Kolesterol, yağ damlacıklarından steroidojenik akut düzenleyici protein yoluyla mitokondriye taşınır ve pregnenolon üretilir. sER'deki enzimler, pregnenolon'u progesterona ve progesteronu testosterona dönüştürür. Leydig hücrelerinde testosteron üretildikten sonra hücreden ayrılarak androjen reseptörüne bağlanır ve bu reseptör bir yandan erkeklik özelliklerini desteklerken diğer yandan da sperm üretimini uyarır. Androjen reseptörü, embriyonik

yaşamda androjen aktivitesinin başlamasından önceki 8. Haftada ifade edilir. Androjen reseptörü, steroid tiroid retinoik asit üst ailesinin bir üyesidir ve bu nedenle üç alana sahiptir:

1. Androjene duyarlı elemanı tanıyan bir DNA bağlanma alanı.
2. Transkripsiyon faktörleri bağlayıcı bölge.
3. Bir androjen bağlayıcı bölge.

Androjen reseptörü, Sertoli hücrelerinde, peritübüler miyoid hücrelerinde, Leydig hücrelerinde, spermatidlerde bulunduğu ve dolayısıyla bu hücrelerin gelişimi için gerekli olduğu için testislerin metabolizmasında büyük önem taşır. Androjen hücreye girdiğinde, önce androjen reseptörüne bağlanır. Androjenler, özellikle spermatidler üzerindeki androjen reseptörüne bağlanarak, bunlardan olgun spermatozoa gelişimini sağlar ve fonksiyona yardımcı olarak DNA hasarı gelişimini engeller. KTB oluşumunu ve komşu spermlerin FSH ile Sertoli hücreleri üzerindeki reseptörlerine bağlanarak sağlıklı gelişimini destekler (Kuruş, 2020).

2.4.2. Spermatogenez ve Hormonal Etki

Spermatozoa üretimini kontrol eden birçok parametre vardır. LH, hipofiz bezi tarafından salgılanır. Leydig hücrelerinde testosteron üretimini uyarır. Testosteron, spermatozoa oluşturmak için testislerdeki üreme hücrelerinin büyümesi için gereklidir. Hipofiz bezi tarafından salgılanan FSH'nin işlevi, spermatogenik hücrelerin spermatozoaya dönüşmesini sağlamaktır. FSH, Sertoli hücreleri üzerinde etki gösterir ve Sertoli hücrelerinde androjen bağlayıcı proteinlerin sentezini uyarır. Bu protein androjenlere bağlanır ve lümene salgılanır. Seminifer tübüllerin lümeninde biriken androjenler spermatogenez sonlandırır. Östrojen, FSH ile uyarılan Sertoli hücrelerinde testosterondan üretilir ve muhtemelen spermatogenez için gereklidir. Büyüme hormonu, testislerdeki temel metabolik fonksiyonları kontrol etmek için gereklidir. (Guyton ve Hall, 2007).

2.5. Diğer Erkek İç Üreme Organları

2.5.1. Tubuli Rekti

Tubuli kontorti kısa, düz kanalların devamını temsil eder. Kısa tübülün spermatogenik seri hücrelerin görülmediği bu kısmı sadece prizmatik Sertoli hücreleri ile kaplıdır. Düz tübüller mediasteninin karmaşık retiküler yapısı içinde daralarak rete testise açılır ve epitelleri kısalır ve rete testise açıldıkları yerde küboid hale gelir. Sertoli hücreleri seminifer tübüllerden farklı olarak apikal ve lateral uzantılarını kaybederek düz tübüllerden başlayarak şekil değiştirirler (Kuruş, 2020).

2.5.2. Rete Testis

Testislerin düz tübülleri, testiküler mediastende rete testise açılır. Rete testis, tek bir küboid veya düşük prizmatik epitel tabakası ile kaplı düzensiz, anastomoz yapan kanallardır. Epitel hücreleri, tek bir apikal silyum ve birkaç kısa mikrovillus içerir. Epitelin dayandığı bazal membran, çok sayıda mediastinal kan damarı içeren bağ dokusu ile çevrilidir (Eşrefoğlu, 2020).

2.5.3. Ductuli Efferentes

Rete testis, yaklaşık 20 kıvrımlı efferent kanalla (15-20 cm uzunluğunda) epididimin başında açılır. Kanallar psödostratifiye kolumnar epitel ile döşelidir. Hücre boyutları eşit olmadığı için epitel yüzeyi pürüzlü görünür. Uzun prizmatik hücreler genellikle siyumludur. Bununla birlikte, yüzeyinde çok sayıda mikrovillus vardır. Mikrovilli içeren hücrelerin apikal plazma zarları, sitoplazmaya çökerken tübüller oluşturur. Apikal sitoplazma çok sayıda mikropinositik vezikül, yoğun zara bağlı cisimler ve lizozomlar içerir. Bu özellikler, hücrenin endositik aktivitesini gösterir. Seminifer tübüller tarafından salgılanan sıvının çoğu, duktuli efferentesin hücreleri tarafından yeniden emilir. Bazal zarın yanında yer alan kübik bazal hücreler, başka hücrelere dönüşebilen kök hücrelerdir. Lenfositler epitelde tespit edilebilir. Elastik lifler içeren ince bir halka şeklindeki kas tabakası kanalı çevreler. Spermatozoanın bu kanallar boyunca ilerlemesi, silyumlar ve kas tabakasının hareketi sayesinde gerçekleşir (Kuruş, 2020).

2.5.4. Epididimis

Epididimis olarak bilinen organ aslında duktuliefferentes ve duktus epididimis'ten oluşan bir organdır. Testisin üst arka yüzeyi boyunca uzanır. Üç bölümden oluşur: baş, gövde ve kuyruk. Kanal, epididimin başında bulunur. Son derece kıvrımlı ve uzun bir

kanal olan duktus epididimis, epididimisin gövde ve kaudal kısımlarında yer alır. Kanal, kan damarları ve düz kas hücreleri açısından zengin gergin bağ dokusu ile çevrilidir. Yüzeyi kaplayan epitel, stereocilia içeren yalancı çok katlı prizmatik bir epiteldir. Epitelyum, bazal hücreleri ve fiziksel formdaki ana hücreleri içerir. Ana hücreler, çok sayıda uzun stereocilia içeren büyük, prizmatik hücrelerdir. Sitoplazma geniş rER keselerine, sER tübüllerine ve belirgin bir Golgi kompleksine sahiptir. Ana hücreler, sperm olgunlaşmasını sağlayan sialik asit, gliserofosfokolin ve glikoproteinleri salgılar. Bu maddeler kapasitasyon reaksiyonu ile elimine edilir ve spermatozoa tam fertilizasyon kapasitesini kazanır. Bazal hücreler ise kök hücre özelliklerine sahiptir. Epididimin baş ve gövdesinin çoğunda bağ dokusuna ek olarak dairesel desenli düz kastan oluşan ince bir tabaka vardır. Kuyrukta gövdenin iç ve dış kısımlarına iki uzunlamasına kas tabakası daha eklenir. Epitel hücreleri, Sertoli hücreleri tarafından elimine edilmemiş kalıntı cisimleri ve anormal spermatozoayı fagosite eder (Eşrefoğlu, 2016).

2.5.5. Ductus Deferens

Epididimisin kuyruğunun devamı olan kalın duvarlı kaslı bir kanaldır. Testisin arka yüzeyinden aşağıya doğru uzanır ve spermatik kordun bir üyesi olarak inguinal kanaldan karın boşluğuna geçer. Burada mesane seviyesine kadar genişleyerek ampullayı oluşturur. Ampullanın son kısmında seminal vezikül kanalları yoluyla prostata girer ve ejakülasyon kanalı olarak üretrada son bulur. Epididime benzer şekilde, yalancı çok katlı prizmatik bir epitel ile kaplıdır. Sterocilium, çoğu epitel hücresinin yüzeyinde bulunur. Epitelin altında elastik lifler açısından zengin olan lamina propria bulunur. Mukoza lümenine doğru katlandığı için lümen düzensiz görünür. Kas tabakası, içte ve dışta uzunlamasına ve merkezi sirküler kas liflerinden oluşan kalın bir tabakadır (Eşrefoğlu, 2016).

2.5.6. Duktus Ejakulatoryus

Ejakülatör kanallar, prostat üretrasının arka duvarına açılan ve vas ampullasının devamı olarak seminal kanalların kanallarını birleştiren, prostatla çevrili kısa, düz bir kanaldır. Basit bir salgılayıcı prizmatik veya psödostratifye kolumnar epitel ile kaplıdır ve sarı pigment granülleri içerir. Prostat üretrasına açıldığı kısımda epitel tipi çok katlı epitele dönüşür. Lamina propria, elastik lifler açısından zengindir. Vas deferens'in lümenini çevreleyen kaslı yapı ejakülasyon kanalında bulunmaz. Bunun yerini prostatın fibromusküler dokusu alır. (Kuruş, 2020).

2.6. Erkek Genital Sistem Yardımcı Bezleri

2.6.1. Vesikula Seminalis

Mesanenin arkasında yer alan, oldukça kıvrımlı ve yaklaşık 15 cm uzunluğunda, kanalları vas deferens'in ampullasına bağlanarak onları oluşturan bir çift tübüler bezdir. Kavisli seyri nedeniyle, bir bölüm aynı kanalın farklı yönlerde ilerleyen bölümlerini gösterir. Duvarı bir mukoza zarı, ince bir kas tabakası ve bir fibroelastik bağ dokusu tabakasından oluşur. Primer, sekonder ve tersiyer mukoza kıvrımları nedeniyle lümenleri son derece düzensiz, bazen bal peteği şeklindedir. Psödostratifiye prizmatik epitel, prizmatik hücreler ve küboid bazal hücrelerden oluşur. Prizmatik hücreler, protein sentezleyen hücrelerin özelliklerini gösterir. Bu hücrelerde salgı granülleri ve sarı bir pigment görülebilir. Seminal kesenin salgıladığı sarımsı sıvı fruktoz, sitrat ve spermatozoayı harekete geçiren prostaglandinler açısından zengindir. Fruktoz, spermatozoa hareketliliği için enerji kaynağıdır (Eşrefoğlu, 2016).

2.6.2. Prostat Bezi

En büyük yardımcı genital bez olan prostat, mesaneden çıkan üretrayı çevreler. Ana işlevi, semen içeriğine katılan hafif alkali, şeffaf bir sıvı salgılamaktır. Prostat salgısı ejakülatın bir parçasıdır, seröz lipidler açısından zengin olan bu salgı proteolitik enzimler, asit fosfataz, fibrinolizin, çinko, amilaz ve sitrik asit içerir. Prostat salgısı dışı genital yoluna ulaştıktan sonra pıhtılaşan ejakülatın içeriğindeki fibrinoliz sayesinde sıvılaşmasını sağlar. Prostatta salgılama işlemini yürüten prostat bezinin epitelinin büyümesi ve salgılanması, dihidrotestosteron hormonu tarafından düzenlenir. İçeriklerini boşaltım kanallarından prostatik üretraya aktaran yaklaşık 40-50 dallı tubuloalveoler bezden oluşur. Organın merkezinde çok gevşek bağ dokusuna gömülü prostatik üretra bulunur. Prostat bezlerinin 15-30 uzun kanalla açıldığı prostat üretrası çok katlı değişici epiteline sahiptir. Prostat bezlerinin alveolleri arasındaki boşluk, prostatın fibromüsküler stroması ile doldurulur. Fibromüsküler stroma, çok sayıda düz kas lifinden ve yoğun, düzensiz bağ dokusundan oluşur. Bezler eş merkezli 3 katman halinde düzenlenmiştir. Bir iç mukozal tabaka, bir orta submukozal tabaka ve büyük prostat bezlerini içeren periferik bir tabaka vardır. Mukozal tabaka herhangi bir bezi doğrudan üretraya salgılamazken, diğer iki tabaka prostatik sinüslere boşalan ve düz kas liflerinden zengin fibroelastik bağ dokusu kapsülü ile çevrili kanallara sahiptir. Kapsül içe doğru bölmeler verir ve loblar oluşturur. Prostat bezlerinin epiteli genellikle tek tabakalı prizmatiktir,

ancak aktiviteye bağılı olarak çok katlı yassı veya yalancı çok katlı prizmatik tabakalar bulunabilir (Kuruş, 2020).

2.6.3. Bulboüretal bezler

Bulboüretal (Cowper) bezler Membranöz üretranın arkasında ürogenital diyaframda yer alan birbirine bağılı iki tubuloalveolar bezdir. Kanalları penisin üretrasına açılır. Dış yüzeyinde iskelet kaslarını içeren bir bağ dokusu kapsülü ile çevrilidirler. Bu kapsüldeki ayrı bölmeler, organı loblara ayırır. Septumun bağ dokusu elastik lifler, düz kas lifleri ve çizgili kas lifleri açısından zengindir. Salgı kısmı, mukus salgılayan tek katlı küboid veya kolumnar epitel ile kaplıdır. Salgının ürünü, kayganlaştırıcı görevi gören berrak bir mukustur. Bu ürün galaktoz, galaktozamin ve sialik asit açısından zengindir. Salgısı, preseminal sıvının en büyük bölümünü oluşturur (Eşrefoğlu, 2016).

2.7. Apoptoz

Apoptoz, normal olarak gelişme ve yaşlanma sırasında ve dokulardaki hücre popülasyonlarını korumak için homeostatik bir mekanizma olarak ortaya çıkar. Apoptoz ayrıca bağışıklık reaksiyonlarında veya hücreler hastalık veya zararlı ajanlar tarafından hasar gördüğünde olduğu gibi bir savunma mekanizması olarak da ortaya çıkar Apoptozu tetikleyebilen hem fizyolojik hem de patolojik çok çeşitli uyaran ve koşullar olmasına rağmen, tüm hücreler aynı uyarana yanıt olarak mutlaka ölmeyecektir. Işınlama veya kanser kemoterapisi için kullanılan ilaçlar, bazı hücrelerde p53'e bağılı bir yol yoluyla apoptotik ölüme yol açabilen DNA hasarına neden olur. Kortikosteroidler gibi bazı hormonlar, bazı hücrelerde (örneğin timositler) apoptotik ölüme yol açabilir, ancak diğer hücreler etkilenmez ve hatta uyarılır (Norbury ve Hickson, 2001).

Bazı hücreler, ligand bağlama ve protein çapraz bağlama yoluyla apoptoza yol açabilen Fas veya tümör nekroz faktörü (TNF) reseptörlerini eksprese eder. Diğer hücreler, bir hormon veya büyüme faktörü gibi bir hayatta kalma faktörü tarafından bloke edilmesi gereken varsayılan bir ölüm yoluna sahiptir. Ayrıca apoptozun nekrozdan ayırt edilmesi gerekir. Apoptoz ve nekroz birbirinden bağımsız, sıralı ve aynı anda meydana gelebilen iki süreçtir. Bazı durumlarda, hücrelerin apoptoz veya nekroz ile öleceğini belirleyen, uyaranların türü veya uyaranların şiddetidir. Düşük dozlarda ısı, radyasyon, hipoksi ve sitotoksik antikanser ilaçları gibi çeşitli zararlı uyaranlar apoptozu indükleyebilir, ancak aynı uyaranlar daha yüksek dozlarda nekroza neden olabilir.

Apoptoz, “kaspazlar” olarak adlandırılan bir grup sistein proteazın aktivasyonu ve başlatıcı uyarıları ile hücrenin ölümüne neden olan karmaşık bir olaylar dizisini içeren koordineli ve genellikle enerjiye bağlı bir süreçtir. (Zeiss, 2003).

Hem nükleusu hem de sitoplazmayı ilgilendiren apoptotik hücre ölümünün morfolojik değişiklikleri, hücre tipleri ve türleri arasında dikkate değer ölçüde benzerdir (Häcker, 2000). Genellikle hücre ölümünün başlamasından nihai hücre parçalanmasına kadar birkaç saat gerekir. Bununla birlikte, geçen süre hücre tipine, uyarana ve apoptotik yola bağlıdır (Ziegler vd., 2004).

Apoptozun morfolojik ayırt edici özellikleri, hücrenin yuvarlaklaşması, hücre haciminde azalma (piknoz) ve kromatin yoğunlaşması ve nükleer parçalanmadır (Kroemer vd., 2005). Kromatin yoğunlaşması, nükleer membranın çevresinde başlar ve hilal veya halka benzeri bir yapı oluşturur. Kromatin, karyoreksis olarak tanımlanan membranı sağlam olan bir hücre içinde parçalanana kadar daha da yoğunlaşır (Majno ve Joris ,1995). Plazma zarı apoptoz boyunca sağlamdır. Apoptozun sonraki aşamasında bazı morfolojik özellikler arasında sitoplazmik organellerin ultrastrüktürel modifikasyonu ve membran bütünlüğünün kaybı yer alır. Genellikle fagositik hücreler, apoptotik cisimcikler oluşmadan önce apoptotik hücreleri fagosite eder. (Ziegler ve Groscurth, 2004).

2.7.1. Apoptozda Biyokimyasal Değişiklikler

Genel olarak, apoptozda üç ana tip biyokimyasal değişiklik gözlemlenebilir: 1) kaspazların aktivasyonu, 2) DNA ve protein yıkımı ve 3) membran değişiklikleri ve fagositik hücreler tarafından tanınması.

Apoptozun başlarında, hücre zarının dış katmanlarında, iç katmanlardan “dışarı çevrilmiş” olan fosfatidilserin ifadesi vardır. Bu, ölü hücrelerin makrofajlar tarafından erken tanınmasına izin vererek proinflamatuvar hücresel bileşenlerin salınımı olmadan fagositozla sonuçlanır (Hengartner, 2001). Bunu, DNA’nın 50 ila 300 kilobazlık büyük parçalara karakteristik bir parçalanması izler. Daha sonra, DNA’nın endonükleazlar tarafından 180 ila 200 baz çiftinin katlarında oligonükleozomlara internükleozomal bölünmesi vardır. Bu özellik apoptozun karakteristiği olmasına rağmen, agaroz jel elektroforezindeki tipik DNA merdiveni nekrotik hücrelerde de görülebildiğinden spesifik değildir (McCarthy ve Evan, 1998). Apoptozun diğer bir özel özelliği, kaspazlar

adı verilen sistein proteaz ailesine ait bir grup enzimin aktivasyonudur. Aktive edilmiş kaspazlar birçok hayati hücrel proteinleri parçalar ve nükleer yapı iskelesini ve hücre iskeletini parçalar. Dnaz'ı da aktive ederler. Biyokimyasal değişiklikler apoptozdaki bazı morfolojik değişiklikleri kısmen açıklasa da apoptoz oligonükleozomal DNA fragmentasyonu olmadan gerçekleşebileceğinden ve kaspaz olabileceğinden, DNA fragmentasyonu veya kaspaz aktivasyonunun biyokimyasal analizlerinin apoptozu tanımlamak için kullanılmaması gerektiğini belirtmek önemlidir. Apoptozun saptanmasında birçok biyokimyasal tahlil ve deney kullanılmış olsa da Hücre Ölümü Adlandırma Komitesi (NCCD), hücre ölümü modalitelerinin sınıflandırılmasının tamamen morfolojik kriterlere dayanması gerektiğini, çünkü ultrastrüktürel değişiklikler arasında kesin bir eşdeğerlik bulunmadığını öne sürmüştür (Galluzz vd., 2007).

2.7.2. Apoptoz mekanizmaları

Apoptoz mekanizmalarını anlamak çok önemlidir ve düzensiz apoptozun bir sonucu olarak ortaya çıkan durumların patogenezinin anlaşılmasına yardımcı olur. Bu da belirli apoptotik genleri veya yolları hedefleyen ilaçların geliştirilmesine yardımcı olabilir. Kaspazlar hem başlatıcı hem de uygulayıcı oldukları için apoptoz mekanizmasının merkezinde yer alır. Kaspazların aktive edilebileceği iki yol vardır. Yaygın olarak tanımlanan iki başlatma yolu, intrinsik (mitokondriyal) ve ekstrinsik (ölüm reseptörü) yollarıdır. Her iki yol da sonunda ortak bir yola veya apoptozun yürütme aşamasına yol açar (O'Brien ve Kirby, 2008).

2.7.3. İntrinsik Yol

Adından da anlaşılacağı gibi, intrinsik yol hücre içinde başlatılır. Onarılamaz genetik hasar, hipoksi, aşırı yüksek sitozolik Ca^{2+} konsantrasyonları ve şiddetli oksidatif stres gibi iç uyaranlar, intrinsik yolun başlatılmasının bazı tetikleyicileridir. Bu yol, foliküler Hodgkin olmayan lenfomada 18 ila 14 kromozomunun translokasyonunun kromozomal kırılma noktasında orijinal olarak gözlemlenen anti apoptotik geninden (BCL-2) adını alan bir protein grubu tarafından yakından düzenlenir (Tsujimoto vd., 1984). Bcl-2 proteinlerinin iki ana grubu vardır, bunlar proapoptotik proteinler (örn. Bax, Bak, Bad, Bcl-Xs, Bid, Bik, Bim ve Hrk) ve anti-apoptotik proteinler (örn. Bcl-2, Bcl-XL, Bcl-W, Bfl-1 ve Mcl-1). Anti-apoptotik proteinler sitokrom-c'nin mitokondriyal salınımını bloke ederek apoptozu düzenlerken, pro-apoptotik proteinler bu salınımı teşvik ederek etki eder. Apoptozun başlayıp başlamayacağını belirleyen şey mutlak miktar değil,

pro- ve anti-apoptotik proteinler arasındaki dengedir (Reed, 1997). Mitokondriyal zarlar arası boşluktan sitoplazmaya salınan diğer apoptotik faktörler arasında apoptoz indükleyici faktör, ikinci mitokondri türevli kaspaz aktivatörü (Smac), Düşük pI'li doğrudan IAP Bağlayıcı protein (DIABLO) ve Omi/yüksek sıcaklık gereksinimi proteini bulunur. Sitokrom c'nin sitoplazmik salınımı, sitokrom c, Apaf-1 ve kaspaz 9'dan oluşan apoptozom olarak bilinen bir kompleksin oluşumu yoluyla kaspaz 3'ü aktive eder. Öte yandan, Smac/DIABLO veya Omi/HtrA2, apoptoz proteinlerinin (IAP'ler) inhibitörüne bağlanarak kaspaz aktivasyonunu destekler, bu da daha sonra IAP'lerin kaspaz-3 veya -9 ile etkileşiminde bozulmaya yol açar (Kroemer vd., 2007).

2.7.4. Ekstrinsik yol

Dışsal ölüm reseptörü yolu, adından da anlaşılacağı gibi, ölüm ligandlarının bir ölüm reseptörüne bağlanmasıyla başlar. Birkaç ölüm reseptörü tanımlanmış olmasına rağmen, en iyi bilinen ölüm reseptörleri tip 1 TNF reseptörü (TNFR1) ve Fas (CD95) adı verilen ilgili bir proteindir ve bunların ligandları sırasıyla TNF ve Fas ligandı olarak adlandırılır. Bu ölüm reseptörleri, TNF reseptörü ile ilişkili ölüm alanı ve Fas ile ilişkili ölüm alanı gibi adaptör proteinlerin yanı sıra kaspaz 8 gibi sistein proteazları alan bir hücre içi ölüm alanına sahiptir (Hengartner, 2001). Ölüm ligandının ölüm reseptörüne bağlanması, bir adaptör protein için bir bağlanma bölgesinin oluşumu ile sonuçlanır ve tüm ligand-reseptör-adaptör protein kompleksi, ölümü indükleyen sinyal kompleksi olarak bilinir (O'Brien ve Kirby, 2008). DISC daha sonra pro-kaspaz 8'in montajını ve aktivasyonunu başlatır. Enzimin aktive edilmiş formu olan kaspaz 8, diğer aşağı akış veya uygulayıcı kaspazları parçalayarak apoptozu başlatan bir başlatıcı kaspazdır (Walker, 2002).

2.8. Kadmiyum

Kadmiyum, Cd sembolü ve atom numarası 48 olan kimyasal bir elementtir (Meija vd., 2016). Bu yumuşak, gümüşü beyaz metal, grup 12'deki diğer iki kararlı metal olan çinko ve cıvaya kimyasal olarak benzerdir. Çinko gibi, bileşiklerinin çoğunda +2 oksidasyon durumu gösterir ve cıva gibi, 3'ten 11'e kadar olan gruplardaki geçiş metallerinden daha düşük bir erime noktasına sahiptir. Dünya'nın kabuğundaki ortalama kadmiyum konsantrasyonu milyonda 0,1 ila 0,5 parça (ppm) arasındadır. Kadmiyum 1817'de, Almanya'da Friedrich Stromeyer ve Karl Samuel Leberecht Hermann tarafından keşfedilmiştir (Morrow, 2010).

2.8.1. Fiziksel özellikler

Kadmiyum yumuşak, dövülebilir, esnek, gümüşü-beyaz bir metaldir. Pek çok açıdan çinkoya benzer, ancak karmaşık bileşikler oluşturur. Diğer metallerin çoğunun aksine kadmiyum korozyona dayanıklıdır ve diğer metaller üzerinde koruyucu bir plaka olarak kullanılır. Dökme bir metal olarak kadmiyum suda çözünmez ve yanıcı değildir; ancak toz halindeyken yanabilir ve zehirli dumanlar salabilir (Holleman vd., 1985).

2.8.2. Kimyasal özellikler

Kadmiyum genellikle +2 oksidasyon durumuna sahip olmasına rağmen, +1 durumunda da mevcuttur. Kadmiyum ve benzerleri, elementel veya genel oksidasyon durumlarında kısmen doldurulmuş d veya f elektron kabuklarına sahip olmadıklarından her zaman geçiş metalleri olarak kabul edilmezler. (Cotton, 1999). Kadmiyum havada yanarak kahverengi amorf kadmiyum oksit (CdO) oluşturur. Bu bileşiğin kristal formu, çinko okside benzer şekilde ısıtıldığında renk değiştiren koyu kırmızıdır. Hidroklorik asit, sülfürik asit ve nitrik asit, kadmiyum klorür, kadmiyum sülfat (CdSO_4) veya kadmiyum nitrat ($\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$) oluşturarak kadmiyumu çözer (Holleman vd., 1985).

2.8.3. Kullanım Alanları

Üretimine 1900'lerin başında başlanmış ve 1. Dünya Savaşı'ndan sonra kadmiyum yaygın olarak kullanılmıştır. Kadmiyum, endüstriyel proseslerde yaygın olarak kullanılmaktadır, örneğin: bir antikorozyon ajanı olarak, PVC ürünlerinde bir stabilizatör olarak, bir renk pigmenti olarak, nükleer enerji santrallerinde bir nötron emici olarak ve nikel-kadmiyum pillerin imalatında. Kadmiyum ayrıca fosfatlı gübrelerde kirletici olarak bulunur. Bazı kadmiyum içeren ürünler geri dönüştürülebilse de genel kadmiyum kirliliğinin büyük bir kısmı kadmiyum ile kirlenmiş atıkların boşaltılması ve yakılmasıyla oluşur (Järup, 2003).

2.8.4. İnsan Vücudunda Rezorpsiyonu

Temelde kadmiyum rezorpsiyonunun üç olası yolu vardır: Gastrointestinal, pulmoner ve dermal.

Gastrointestinal yol

İnsan gastrointestinal yoluyla alım, kesin doza ve besin bileşimine bağlı olarak, sindirilen kadmiyum miktarının yaklaşık %5'i kadardır (Jin, vd., 2002). Ortalama bir kişi yaklaşık 30-35 µg kadmiyum alımına sahiptir; Bunun %95'i yiyecek ve içeceklerden alındı. Ortalama bir sigara içicisinin günlük ek 30 µg alımı vardır. Düşük D vitamini alımı, kalsiyum ve çinko ve bakır gibi eser elementler gibi çeşitli faktörler bu miktarı artırabilir

Çinko ve kalsiyum ile ilgili olarak, moleküler homolojilerinin telafi edici daha yüksek kadmiyum emilimi için bir neden olabileceği varsayılmaktadır (Taylor, 1988). Foulkes, bir hayvan modelinde kadmiyumun böylesine rekabetçi bir rezorpsiyonunu gösterebilmiştir: Sıçan jejunumunda kadmiyum alımı, Pb, Ni, Cr₃ +, Sr ve Mg dahil olmak üzere diğer çok değerlikli katyonların nispeten yüksek konsantrasyonları tarafından bastırılmıştır (Foulkes, 1985).

Ayrıca yüksek lifli diyet, diyetteki kadmiyum alımını artırır. Kadmiyum alımı için en önemli metabolik parametre, bir kişinin olası demir eksikliğidir. Düşük demir kaynakları olan kişiler, dengeli demir stoğuna sahip olanlara göre %6 daha fazla kadmiyum alımı göstermiştir. Bu, çocuklarda veya adet gören kadınlar gibi anemili ve alışılmış demir eksikliği olan kişilerde kadmiyum emiliminin yüksek olmasının ana nedenidir. Düşük demir kan seviyeleri, GI kanalında bir metal iyon taşıyıcısı olan DCT-1'in ekspresyonunu uyarır ve kadmiyum rezorpsiyonu için bir kapı görevi görür (Gunshin, 1997).

İkinci Dünya Savaşı'na giden on yıllarda madencilik operasyonları Japonya'daki Jinzū Nehri'ni kadmiyum ve diğer toksik metallerin izleriyle kirletti. Sonuç olarak, madenlerin aşağısında nehir kenarları boyunca pirinç mahsullerinde kadmiyum birikti. Yerel tarım topluluklarının bazı üyeleri kontamine pirinci tüketti ve itai-itai hastalığı ve proteinüri ve glukozüri dahil böbrek anormallikleri geliştirdi. (Nogawa vd., 2004). Bu zehirlenmenin kurbanları, neredeyse tamamen, düşük demir ve düşük vücut diğer mineral depolarına sahip menopoz sonrası kadınlardı. Dünyanın diğer bölgelerindeki benzer genel popülasyon kadmiyum maruziyetleri, aynı sağlık sorunlarına yol açmadı çünkü popülasyonlar yeterli demir ve diğer mineral seviyelerini korudu (Hayes vd., 2007).

Solunum sistemi yolu

İnhalatif kadmiyum zehirlenmesinin ana kaynağı sigara dumanıdır. İnsan akciğeri tütün dumanındaki kadmiyumun %40-60'ını emer Elinder vd., 1976). 50 yaşında ortalama sigara içmeyen bir kişi 15 mg kadmiyum vücut yüküne sahiptir. Karşılaştırılabilir bir yaşam boyu sigara içicisi 30 mg'lık bir değer gösterirken. Sigara içenlerin kanında kadmiyum düzeyleri genellikle sigara içmeyenlere göre 4-5 kat fazladır (Järup vd., 1998).

Mesleki kadmiyum'a maruz kalmanın en tehlikeli şekli, ince toz ve dumanların solunması veya yüksek oranda çözünür kadmiyum bileşiklerinin yutulmasıdır. Kadmiyum dumanının solunması başlangıçta metal dumanı ateşine neden olabilir, ancak ilerleyerek kimyasal pnömoni, akciğer ödemi ve ölüme neden olabilir (Hayes vd., 2007).

Dermal rezorpsiyon

Kadmiyumun dermal emilimi üzerine çok az araştırma yapılmıştır. 1991'de Wester vd., (1992) bir difüzyon hücre modelinde kadmiyum ile kirlenmiş toprak ve su çözeltilerinden insan kadavra derisi tarafından emilim üzerinde deneyler yapmıştır. Uygulanan kadmiyum dozunun %8.8'i toprak ve %12.7'si sudan cilde nüfuz ettiğini göstermişlerdir. Lansdown ve Sampson (1996), 10 gün boyunca her gün farelerin sırtına (tırış edilmiş deri) bir $CdCl_2$ çözeltisi uyguladı. Deri, ara sıra ülseratif değişiklik ile hiperkeratoz ve akantoz ve deri hücrelerinin mitotik indeksinde bir artış gösterdi. Ayrıca kan, karaciğer ve böbrekteki kadmiyum konsantrasyonu artmıştır, bu da perkütan absorpsiyona işaret etmektedir.

2.8.5. Vücuttaki Kadmiyumun Taşınması

Kan tarafından alındıktan sonra kadmiyumun çoğu, Albumin ve Metallothionein gibi proteinlere bağlı olarak taşınır. Kadmiyum kana alındıktan sonra ulaşılan ilk organ karaciğerdir. Burada Kadmiyum, Metallothionein üretimine neden olur. Ardışık hepatosit nekrozu ve apoptozdan sonra, Kadmiyum-Metallothionein kompleksleri sinüzoidal kana yıkanır. Buradan emilen kadmiyumun bazı kısımları, kadmiyum-glutatyon konjugatları şeklinde safra yoluna sekresyon yoluyla entero-hepatik döngüye girer. Safra ağacında

enzimatik olarak kadmiyum-sistein komplekslerine indirgenen kadmiyum, ince bağırsaklara yeniden girer (Zalups ve Ahmad, 2003).

Uzun süreli kadmiyum birikimi için ana organ böbrektir (Orłowski ve Piotrowski, 2003). Burada kadmiyum için yarı ömür süresi yaklaşık 10 yıldır. Ömür boyu alım bu nedenle böbrekte kadmiyum birikimine yol açabilir ve sonuç olarak tübülüs hücre nekrozu ile sonuçlanabilir.

Kadmiyumun kan konsantrasyonu, yakın tarihli bir ekspozisyon için güvenilir bir gösterge görevi görürken, idrar konsantrasyonu geçmiş maruziyeti, vücut yükünü ve böbrek birikimini yansıtır kadmiyumun atılımı dışkı ve idrar yoluyla gerçekleşir (Jin vd., 2002).

2.8.6. İnsan Sağlığına Yönelik Tehlikeler

Akut zehirlenme

Solunum sistemi, kadmiyum ile kontamine olmuş havanın solunmasından ciddi şekilde etkilenir: Kadmiyum'a bağlı pnömonitin bir parçası olarak nefes darlığı, akciğer ödemi ve mukoza zarının tahribatı tarif edilmektedir. K. Seidal vd. daha önce nispeten sağlıklı olan 78 yaşındaki bir adamın, kadmiyum içeren gümüş lehimle lehimleme sırasında kadmiyum dumanına maruz kaldığını, sonrasında ciddi kimyasal pnömoni geliştirdiğini ve maruz kaldıktan 25 gün sonra öldüğünü bildirmişlerdir (Seidal vd., 1993). 1940'lardan bu yana yapılan yapılmış çalışmalarla, kadmiyum ile kontamine gıda alımı kusma ve ishal gibi akut gastrointestinal etkilere neden bilinmektedir (Nordberg, 2004).

Böbrek hasarı

Böbrek hasarı uzun zamandan beri kronik olarak Kadmiyum'a maruz kalan hastalar için ana sorun olarak tanımlanmıştır. Kadmiyum böbreğe kadmiyum-metalotiyonin (Cd-MT) şeklinde ulaşır. Cd-MT, glomerülde filtrelenir ve ardından proksimal tübülde yeniden emilir. Daha sonra tübül hücrelerinde kalır ve kadmiyum vücut yükünün büyük bölümünü oluşturur. Böbrek tübül hücrelerindeki kadmiyum miktarı her insanın yaşam süresi boyunca artar. Bu fenomenin bir sonucu olarak fosfor ve kalsiyum metabolizmasının bozulması tartışılmaktadır (Barbier vd., 2005). Böbrekte

artan kadmiyum yükünün daha yüksek bir kalsiyum atılımına neden olduğu ve böylelikle daha yüksek böbrek taşı riskine yol açtığı da tartışılmaktadır.

Üriner kadmiyum atılımının kadmiyumun neden olduğu böbrek hasarının derecesi ile ilişkili olduğu gösterilmiştir: Gram kreatinin başına 2.5 mikrogram kadmiyum idrar atılımı, %4'lük bir renal tübüler hasar derecesini yansıtır. Bununla birlikte, böbrek hasarının birincil belirteçleri, idrarla atılan β 2-mikroglobulin, N-asetil- α -D-glukozaminidaz ve retinol bağlayıcı proteindir (Bernard, 2004). ChinaCad çalışması, kan kadmiyum konsantrasyonu yüksek olan kişilerde normal değerlere sahip kişilere göre üriner β 2-Mikroglobulin ve RBP için önemli ölçüde daha yüksek değerler göstermiştir (Jin, 2002). İlk grupta hem glomerüler hem de tübüler hasarlar gözlemlendi. Tübüler hasarın geri döndürülebilir olup olmadığı tartışılmıştır. Ancak bugünün genel kanısı, bunun geri döndürülemez olduğudur.

Üreme biyolojisindeki etkileri

Kadmiyum, sıçanlarda yumurtalık steroidojenik yoluna müdahale ediyor gibi görünmektedir. Piasek vd. in vitro kadmiyum maruziyetinin sıçan yumurtalıklarında steroidogenez üzerindeki doğrudan etkilerini değerlendirdi.

En çok etkilenenler progesteron ve testosteron üretimidir (Piasek ve Laskey, 1999). Düşük kadmiyum dozlarının yumurtalık progesteron biyosentezini uyardığı, yüksek dozajların ise inhibe ettiği bildirilmiştir (Henson ve Chedrese, 2004). Annenin kadmiyum'a maruz kalması düşük doğum ağırlığı ve spontan abortus artışıyla ilişkilidir (Godt vd., 2006). Kadmiyumun in vivo ve in vitro olarak güçlü bir nonsteroidal östrojen olduğuna dair bazı kanıtlar da mevcuttur. Sıçanlardaki çalışmalar, kadmiyumun artmış meme gelişimini hızlandığını ve uterus ağırlığını artırdığını göstermiştir (Johnson vd., 2003). Çeşitli çalışmalar kadmiyum'a maruz kalan memelilerde testislerde vasküler endotel hücrelerinin, Leydig hücresi ve Sertoli hücrelerinin, hücrelerarası bağlantıların, KTB bozulmasına, germ hücre kaybına, testis ödemine, inflamasyona ve steriliteye neden olduğunu göstermiştir (Winiarska-Mieczan, 2015; Rani vd., 2014; Zini vd., 2009)

Kemik hasarı ve Itai-Itai hastalığı

20. yüzyılda çeşitli çalışmalar kadmiyum ile kirlenmiş duman ve toza maruz kalan çalışanlarda, kadmiyum zehirlenmesi ve kemik hasarı arasında bir bağlantı gösterdi (Kazantzis, 1979).

İkinci Dünya Savaşı'na giden yıllarda, madencilik operasyonları Japonya'daki Jinzū Nehri'ni kadmiyum ve diğer toksik metallerin izleriyle kirletti. Sonuç olarak, madenlerin aşağısında nehir kenarları boyunca pirinç mahsullerinde kadmiyum birikti. Yerel tarım topluluklarının bazı üyeleri, kontamine pirinci tüketti ve itai-itai hastalığı ve proteinüri ve glukozüri dahil böbrek anormallikleri geliştirdi. Bu zehirlenmenin kurbanları, neredeyse tamamen, düşük demir ve düşük vücut diğer mineral depolarına sahip menopoz sonrası kadınlardı. Dünyanın diğer bölgelerindeki benzer genel popülasyon kadmiyum maruziyetleri, aynı sağlık sorunlarına yol açmadı çünkü popülasyonlar yeterli demir ve diğer mineral seviyelerini korudu. Bu nedenle, kadmiyum Japonya'daki itai-itai hastalığında önemli bir faktör olmasına rağmen, çoğu araştırmacı bunun birkaç faktörden biri olduğu sonucuna varmıştır (Nogawa vd., 2004).

Kanser

Kadmiyumun kansere neden olabileceğine dair kanıtlar vardır. Waalkes vd. subkutan $CdCl_2$ enjeksiyonunun Wistar sıçanlarında prostat kanserini indükleyebileceğini göstermişlerdir (Waalkes vd., 1988). Bu grup ayrıca yüksek doz kadmiyumun sıçanlarda şiddetli testis nekrozuna neden olabileceğini ve ardından daha yüksek testis interstisyel tümör insidansına neden olabileceğini varsaydı. Laboratuvar verilerinin aksine, epidemiyolojik çalışmalar kadmiyumun prostat kanserinin bir nedeni olduğunu ikna edici bir şekilde kanıtlayamadı (Sahmoun vd., 2005).

Ancak ilk yayınlar, insanlarda kadmiyum ve böbrek kanseri arasında bir ilişki olduğunu öne sürüyordu (Kolonel, (1976). Bu varsayım, 2005 yılında yedi epidemiyolojik ve on bir klinik çalışmanın sistematik bir incelemesi ile doğrulanmıştır (Il'yasova ve Schwartz, 2005). Sonuç olarak, IARC (Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı) kadmiyum'u bir insan kanserojen grubu I olarak sınıflandırmaya karar vermiştir. Bununla birlikte, son veriler, sadece solunum sistemi yoluyla kadmiyum alımının kanserojen potansiyele sahip olduğu varsayımını desteklemektedir (Jin vd., 2002).

Kadmiyum'a bağı karsinogenezin moleküler mekanizmaları henüz anlaşılmamış olsa da birkaç faktör buna katkıda bulunabilir: mitojenik sinyalleme nin yukarı regülasyonu, DNA onarım mekanizmasının bozulması ve kadmiyum'a maruz kalmayla apoptotik direncin elde edilmesi (Goyer vd., 2004). Transkripsiyon düzenleyici proteinlerde kadmiyum ile çinkonun ikamesi de tartışılmaktadır. Ayrıca, yeni veriler, kadmiyumun, bir transmembran Ca (II) -bağlayıcı glikoprotein olan E-Kadherin'in yapısını değiştirebildiğini gösterdi. E-Kadherin, özellikle epidermal hücrelerde hücre-hücre adezyonlarında önemli bir rol oynar (Prozialeck ve Lamar, 1999).

2.8.7. Kadmiyumun Testis Üzerine Etkisi

Testis, kadmiyumun büyük miktarlarda birikebileceği dokudur (Thompson ve Bannigan, 2008). Sıçanlarda 14 günlük tedaviden sonra testislerdeki kadmiyum, kandakinden 100 kat daha yüksektir (Aoyagi vd 2004). Kadmiyum, testis yaralanması dahil erkek üreme toksisitesine neden olabilir. Çok sayıda çalışma, memeli testislerinin kadmiyum'a karşı hassas organlar olduğunu göstermiştir (Wong vd., 2005; Sadik, 2008).

Sertoli hücreleri üzerindeki etkileri

Memeli testisi iki bölme içerir: seminifer epitel ve Leydig hücresinin androjen ve insülin benzeri 3 gibi peptid hormonu salgıladığı interstisyel bölme.

Sertoli hücreleri, fetal ve neonatal dönemlerde testis kordonlarının birleştirilmesinde kritik bir rol oynar (Rebourcet vd., 2014; Smith vd., 2015). Yeni doğan farelerin testisindeki Sertoli hücreleri ortadan kaldırıldığında, tübül yapısı kaybolur ve daha sonra yetişkin testiste yetişkin Leydig hücresi gelişimi ciddi şekilde engellenir. Yetişkin testislerde, Sertoli spermatogenezin sürdürülmesi için gereklidir ve yetişkin testislerde Sertoli hücrelerinin ortadan kaldırılması, germ hücrelerinin kaybına neden olabilir (Rebourcet vd., 2014). Ayrıca fetüste Sertoli hücreleri anti-Müllerian hormonu salgılar ve bu da Müllerian kanalın gerilemesine neden olur. Kemirgenlerin ve insanların fetal yaşamında, Sertoli hücresi sayısı katlanarak artar ve doğumdan sonra yavaşlar ve erken ergenlik döneminde yetişkin düzeylerine ulaşır (Sharpe vd., 2003; O'Shaughnessy vd., 2007).

Kadmiyum, fetal ve neonatal dönemlerde Aertoli hücrelerinin gelişimini etkiler. Sıçanlara düşük dozlarda kadmiyumun tek bir intraperitoneal enjeksiyonu (ip.), Sertoli genlerinin (Dhh ve Fshr) ekspresyonunu aşağı doğru düzenler, ancak bu, sayısını etkilemez (Zhang, 2018). Gebe ve emziren sıçanlarda kadmiyum'a (1-2 mg / kg,) maruz kalma, Sertoli hücrelerinin vakuolasyonuna ve yetişkin seminifer epiteline germ hücrelerinin kaybına neden olabilir (Bekheet, 2011). Kadmiyum, domuz yavrusu testisinde proliferasyonu inhibe eder ve olgunlaşmamış Sertoli hücrelerinin apoptozunu ve DNA hasarını indükler (Zhang vd., 2018).

Yetişkin Sertoli hücreleri kadmiyumun hedefidir. Sıçanların 28 gün boyunca gavaj yoluyla günlük 1 mg / kg kadmiyum'a maruz bırakılması, yetişkin Sertoli hücrelerinde ciddi yapı değişikliklerine neden olabilir (Haffor ve Abou-Tarboush, 2004). Tek bir kadmiyum dozuna (3 μ mol / kg) maruz kalan sıçanlar, Sertoli hücrelerinin sitoplazmasında vakuolasyon ve geç spermatidlerde düzensiz kromatin yoğunlaşması gösterir (de Souza Predes vd., 2011). 28 gün boyunca soluma yoluyla kadmiyum'a maruz kalma, yetişkin farelerin Sertoli hücrelerinde ciddi mitokondriyal değişikliklere neden olabilir (Bizarro vd.,2003). Moleküler biyoloji bulguları, kadmiyumun, in vitro aktin düzenleyici proteinler Arp3 ve Eps8'in ekspresyonunu değiştirdikten sonra insan Sertoli hücrelerinde 0.5-20 μ M'de F-aktin organizasyonunu bozarak Sertoli aktin hücre iskeletini bozduğunu göstermektedir (Xiao vd., 2014).

Kan testis bariyeri üzerindeki etkisi

Bir memeli testisindeki KTB, seminifer tübüldeki bazal membranın yakınındaki bitişik Sertoli hücreleri arasında özel bir bağlantıdan oluşur. KTB, kadmiyum 'un hedefidir. Kadmiyum, kemirgen modellerinde KTB'nin yapısının bozulmasına neden olur. Kadmiyum, kemirgenlerde ve insanlarda Sertoli hücrelerinin aktin filamanlarının birleştirilmesini indükleyerek KTB'ye saldırır. (Wong vd., 2005). Mekanik bulgu, kadmiyum 'un sıçan testisinde KTB'yi in vivo olarak dönüştürücü büyüme faktörü β 3'ü yukarı düzenleyerek rahatsız ettiğini ve bu da MAPK sinyallemesini etkinleştirdiğini göstermektedir. İlginç bir şekilde, Kadmiyum aynı zamanda α 2-makroglobulini ters etkilerine karşı koymak için JNK yolunu da aktive eder, çünkü JNK'ya özgü inhibitör KTB'de Kadmiyumun neden olduğu hasarı şiddetlendirebilir (Wong vd., 2005). Sertoli hücrelerine 8 saat 5-10 μ M'de Kadmiyum tedavisi, herhangi bir görünür sitotoksisteye

neden olmadan okludin ve ürokinaz plazminojen aktivatörünün ekspresyonunu aşağı regüle ederek Sertoli hücrelerinin sıkı bağlantı montajını bozabilir (Chung ve Cheng, 2001).

Fokal yapışma kinaz (FAK), KTB'yi düzenlemek için reseptör olmayan bir protein tirozin kinazdır. FAK, sıçan testisinde sıkı bağlantı proteinlerini düzenler. Kadmiyum, FAK ifadesini aşağı düzenleyebilir. Fonksiyonel sıkı bağlantıya sahip Sertoli hücrelerdeki FAK'ın yıkılması, Kadmiyum' un neden olduğu bozulmadan koruyabilir. Bu, Kadmiyum 'un KTB'yi düzenlemek için FAK'yi hedeflediğini gösterir (Siu vd., 2009).

Kadmiyumun sperm gelişimine etkisi

Kadmiyum, sperm gelişimini etkiler. 7 gün boyunca tek doz (0.67-111 mg / kg) Kadmiyum 'a maruz kalan sıçanların, seminifer epiteli düzensizlik gösterir (Cupertino vd., 2017). 28 gün boyunca Kadmiyum 'un (5 mg / kg) 28 günlük oral uygulamasından sonra, sıçanın sperm sayısı, hareketliliği ve canlılığı azalır (Nna vd., 2017). Sıçanlar 15 gün boyunca Kadmiyum 'a (0.2 mg / kg, sc) maruz kaldıklarında, testislerinin seminifer tübüleri düzensiz hale gelir, germ hücrelerinin sayısı azalır (Jahan vd., 2014). Yetişkin erkek sıçanlar, 56 gün Kadmiyum 'a (1.15 mg / kg, ip) maruz kaldıktan sonra seminifer tübüllere önemli ölçüde zarar verdi (Leite vd., 2013). 4 hafta boyunca sıçanlara Kadmiyum (3 mg / kg, sc, haftada bir) maruz kalma da seminifer tübüleri kapar ve germ hücrelerini tüketir ve çok çekirdekli dev hücreleri artırır (Rajendar vd., 2011).

Kadmiyum olgun sperm fonksiyonunu etkiler. İnsan ve fare spermiyle in vitro tedaviden sonra, sperm hareketliliğini ve ilerleyen hareketliliği önemli ölçüde azaltır. Kısa süreli Kadmiyum tedavisi (30 dakika) sperm hareketliliğini etkilemeyecektir, ancak in vitro fertilizasyon oranını önemli ölçüde düşürür ve farelerde erken embriyonik gelişimi geciktirir. Kadmiyum ayrıca insan sperm hareketliliğini ve ileri hareketliliğini düşürür (Zhao vd., 2017).

2.8.8. Kadmiyum Aracılı Eylem Mekanizmaları

Endokrin bozucu etkiler

Leydig hücresi testisteki endokrin hücrelerdir. Kemirgenlerde iki Leydig hücresi popülasyonu vardır, fetal Leydig hücreleri ve yetişkin Leydig hücreleri. Fetal Leydig hücreleri, erkek üreme yolunun gelişimini ve testisin inişini uyarmak için iki önemli hormon, Testosteron (T) ve insülin benzeri peptit 3 (INSL₃) salgılar. Çevresel toksik maddelere perinatal maruziyet gonadal disgenезine neden olabilir (Wang vd., 2019). Kadmiyum, fetal Leydig hücrelerinin gelişimini ve işlevini etkiler. Tek doz Kadmiyum (0.25, 0.5 ve 1.0 mg / kg, ip) alan hamile sıçanlar, fetal testisin T sentezini önemli ölçüde azaltabilir, fetal Leydig hücresi sayısını düşürebilir, fetal Leydig hücresi genlerinin ekspresyonunu aşağı doğru düzenleyebilir ve aynı zamanda erkek yavruların androjene bağlı bir süreç olan anogenital mesafesini kısaltır (Liu vd., 2013). Perinatal olarak (gebelik ve emzirme sırasında) Kadmiyum 'a maruz kalan sıçanların testisinde ve erişkin Leydig hücrelerinin gelişimi gecikir (Tian vd., 2018).

Kadmiyum ayrıca erişkin Leydig hücrelerinin gelişimini ve işlevini de etkiler. 1, 3, 6 ve 12. Aylarda Kadmiyum'a (içme suyunda 0.015 g / L) maruz kalan yetişkin erkek farelerde, erişkin Leydig hücresi hücre hacmini önemli ölçüde azaltmıştır (Blanco vd., 2007). Yarım yıl boyunca Kadmiyum içeren gıdaya (hayvan başına yaklaşık 1-2 g) maruz kalan erkek fareler daha düşük T sekresyonuna ve daha düşük Star, Cyp11a1 ve Cyp17a1 ekspresyonuna sahiptir (Hu vd., 2014). 0.25, 0.5, 1 ve 1.5 yıl boyunca içme suyunda 0.015 g / mL Kadmiyum ile beslenen olgun erkek fareler, erişkin Leydig hücrelerinde sitoplazmik vakuolizasyon, erişkin Leydig hücresi sayısında azalma ve Leydig tümörlerinin oluşumunu sergiler (Blanco vd., 2007). Tek bir doz (0.67-1.1 mg / kg) Kadmiyum 'a 7 gün maruz kaldıktan sonra, sıçanlarda serum testosteron seviyeleri önemli ölçüde azalır (Cupertino vd., 2017). Kamdiyum 'a maruz kalan yetişkin erkek sıçanlar, artmış PGF2 α ve azalmış serum testosteron seviyelerine ve aşağı regüle edilmiş Star'a sahiptir (Gunnarsson vd., 2004). İn vitro çalışmalar, Kadmiyum 'un ayrıca Leydig hücresinin testosteron sentezini ve DNA bütünlüğünü düşürdüğünü göstermiştir (Liu vd.,2013).

Kadmiyuma bağı ROS üretimi

Kadmiyumun bozulmuş erkek fertilitesine aracılık ettiği mekanizmanın testislerde ROS üretimi ile ilgili olduğuna dair kanıtlar vardır. ROS, hidroksil, peroksil ve hidroperoksil radikalleri, süperoksit, nitrik oksit ve nitrojen dioksitten oluşur. ROS'un homeostazı, ROS üretimi ve antioksidan sistem ile sağlanır. Homeostazın bu bozulması, sperm ve somatik hücrelerin gelişimini ve işlevini engelleyen veya apoptozu indükleyen oksidatif strese yol açar. (Morielli ve O'Flaherty, 2015). Yetişkin farelere 5 gün boyunca Kadmiyum 'a (6.5 mg/kg) maruziyet, artan peroksidasyon ve nitrik oksit ve azalmış aktif glutatyon (GSH) seviyesi, katalaz, süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz ve glutatyon redüktaz dahil olmak üzere oksidatif stresi artırır. Anti-apoptotik protein Bcl-2 ile ilişkili X-proteini ve tümör nekroz faktörü- α ve Bcl-2'nin ekspresyonunu aşağı doğru düzenleyerek hücre proliferasyonunda bir azalmaya yol açar (Elmallah vd., 2017). 13, 25 ve 39 gün boyunca kadmiyuma (1.5 mg/kg) maruz kalan sıçanlar ROS üretiminde artışa sahiptir ve seminifer tübül çapının azalmasına, spermatogonia, Sertoli ve L hücrelerinin sayısının azalmasına, sperm hareketliliği ve sayısındaki azalma ile testosteron sentezinin inhibisyonu sahiptir (Mahmoudi vd., 2018).

24 saat tek bir dozdan (2 mg/kg) sonra yetişkin erkek sıçanlara Kadmiyum maruziyeti, ROS oluşumunu indükler ve testiste katalaz aktivitesini azaltır, böylece KTB bozulur (Chen vd., 2018).

İn vitro olarak, Kadmiyum çeşitli testis hücrelerinde ROS üretimini uyardığı da sistem gösterilmektedir. İn vitro Sertoli hücresi germ hücre ko-kültürü, kadmiyumun ROS'u indüklediğini ve GSH'yi düşürdüğünü, böylece sitokrom c salınımına, kaspaz-3 aktivasyonuna ve Sertoli hücresi apoptozisine neden olduğunu göstermektedir (Khanna vd., 2016).

2.8.9. Deneyisel Olarak Kadmiyum ile İndüklenen Testis Hasarı Modellemesi

Birçok hastalığın neden olduğu hasar mekanizmasının ve tedavi olanaklarının geliştirilebilmesi için farklı türlerde deney hayvanı modellerinin kullanımı oldukça yaygındır. Deney hayvanlarının kullanımı araştırmacıların hastalığın patolojisine uygun hayvan türünü seçebilmesini, deneysel süreci tümüyle kontrol altında tutabilmesini ve tedavi için yeni ilaçların denenmesine imkân sağlamaktadır. Memeli testisi iki bölme

içerir, seminifer epitel ve Leydig hücrelerinin androjen ve INSL3 gibi peptit hormonu salgıladığı interstisyel bölüm.

Sertoli hücreleri, fetal ve neonatal dönemlerde testis kordlarının birleştirilmesinde kritik bir rol oynar (Rebourcet vd., 2014; Rebourcet vd., 2016). Yeni doğan farelerin testislerindeki Sertoli hücreleri elimine edildiğinde, tübül yapısı kaybolur ve daha sonra yetişkin testiste Erişkin Leydig hücrelerin gelişimi ciddi şekilde bloke edilir. Yetişkin testislerinde, Sertoli hücreleri spermatogenezi sürdürmek için gereklidir ve yetişkin testislerde Sertoli hücrelerin ortadan kaldırılması germ hücrelerinin kaybına yol açabilir (Rebourcet vd., 2014). Kemirgenlerin ve insanların cenin yaşamında, Sertoli hücrelerinin sayısı katlanarak artar ve daha sonra doğumdan sonra yavaşlar ve erken ergenlikte yetişkin seviyelerine ulaşır (Guo vd., 2020).

Kadmiyum, fetal ve neonatal dönemlerde Sertoli hücrelerinin gelişimini etkiler. Sıçanlara düşük dozlarda Kadmiyumun tek bir intraperitoneal enjeksiyonu (ip.), Sertoli hücresi genlerinin ekspresyonunu aşağı regüle eder (Dhh ve Fshr), ancak bu, sayısını etkilemez. Kadmiyum, domuz yavrusu testisindeki olgunlaşmamış SC'lerin proliferasyonunu inhibe eder ve apoptozu ve DNA hasarını indükler (Li vd., 2018).

Yetişkin Sertoli hücreleri kadmiyumun hedefidir. Sıçanların 28 gün boyunca gavaj yoluyla günlük 1 mg/kg kadmiyuma maruz kalması, yetişkin Sertoli hücrelerinde ciddi ultrastrüktür değişikliklerine neden olabilir (Haffor ve Abou-Tarboush, 2004). Tek doz kadmiyuma (3 µmol/kg) maruz bırakılan sıçanlar, Sertoli hücrelerinin sitoplazmasında vakuolasyon ve geç spermatidlerde düzensiz kromatin yoğunlaşması gösterir (de Souza Predes vd., 2011). 28 gün boyunca soluma yoluyla kadmiyuma maruz kalma, yetişkin farelerin Sertoli hücrelerinde ciddi mitokondriyal değişikliklere neden olabilir (Bizarro vd., 2003).

Bir memeli testisindeki KTB, seminifer tübüldeki bazal membranın yakınındaki bitişik Sertoli hücreleri arasında özel bir bağlantıdan oluşur. KTB, kadmiyumun hedefidir. Kadmiyum, kemirgen modellerinde KTB'nin bozulmasına neden olur (Wu vd., 2020).

Testisler, spermatogenez sırasında aktif olarak çinko içeren metallothionein üretir. Metallothionein ayrıca aktif olarak Kadmiyum'a bağlanarak birikir. Bu nedenle,

Kadmiyum ile testis hasarı oluşturulmasında Kadmiyum serum fizyolojik içeresinde çözölerek deney hayvanlarına ağız yoluyla veya intraperitoneal olarak uygun dozlarda verilir (Suzuki vd., 1998).

2.9. *Lavandula Stoechas*

Lavandula stoechas, Labiatae (Lamiaceae) familyasının önemli bir üyesidir. *Lavandula* türleri Akdeniz bölgesinde yaygın olarak dağılmıştır. Fransa, İspanya, Türkiye ve İtalya’da yetiştirilmektedir. Türkiye’de başlıca iki tür, *Lavandula stoechas* ve *Lavandula angustifolia* yetiştirilir. Bitkinin tıbbi önemi iyi belgelenmiştir ve bu bitkiden hazırlanan ilaçlar birçok Farmakope’de kayıtlıdır. Bitki mukolitik, antispazmodik ve dezenfektan olarak kullanılır (Gören vd., 2002). *Lavandula stoechas* ierdiğı fitokimyasalların insülin rezistansı ve inflamasyonu önleyici etkileri gösterilmiştir (Kulabaş vd., 2018) Bu bitki yüksek aktif bileşik içeriğı, antioksidan ve antiinflamatuvar etkileri nedeniyle terapötik olarak birçok yararlı etki sunar. Birçok araştırma *Lavandula stoechas* uçucu yağılarının 1,8- cineole, linalool, linalyl acetate, fenchone, camphor, valencene, α -piene ve β -phellandrenenin bu bitkinin karakteristik bileşikleri olduğunu göstermiştir. Ancak uçucu yağların bileşimi esas olarak iklimsel ve coğrafi koşulların yanı sıra genetik farklılıklara göre değişebilmektedir. Yakın zamanda yapılan çalışmalarda *Lavandula stoechas* uçucu yağlarının (LSEO) kandaki glisemik seviyeyi düşürme ve sıçanlarda alloksanın neden olduğu oksidatif strese karşı koruma kapasitesine sahip olduğu gösterilmiştir (Sebai, 2013; Sebai, 2015). Ek olarak, LSEO takviyesinin özellikle sıçanlarda insektisit intoksikasyonu ile indüklenen lipid metabolik parametrelerin bozulmasına karşı koruduğu bildirilmiştir (Selmi 2015).

3. YÖNTEM

3.1. Araştırma Modeli

Bu araştırma CdCl_2 ile sıçanlarda oluşturulan testis hasarına karşı LSEO'nun önleyici etkisinin belirlenmesi için yapılmıştır. Bu yöntemin tercih edilme sebebi insanların denek olarak kullanılamaması ve sıçanlar ile testis hasarı modelinin kolay oluşturulabilir olmasıdır.

3.2. Araştırma Evren ve Örneklemi/Araştırma Materyali

Deneyler Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun (MUDEM-HADYEK) 09.04.2021 tarih ve 20/21 karar numaralı onayı doğrultusunda Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi ile Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı laboratuvarlarında gerçekleştirilmiştir.

Çalışmada vücut ağırlığı ortalama 200-250 gr olan 8 haftalık genç erişkin erkek Wistar Albino cinsi sıçan kullanıldı. Kontrol, taşıyıcı, LSEO, CdCl_2 ve LSEO + CdCl_2 olmak üzere beş grup oluşturuldu. Grupların her birinde 7 hayvan olmak üzere toplam 35 hayvan kullanıldı. Hayvanlar 25°C ortamda, su ve pelet yem ile beslenerek araştırmaya alındılar. Yem ve su günlük olarak değiştirildi. Hayvanların ağırlıkları deneyin ilk ve son günü ölçüldü (Resim 3.3).

Sıçanlar ilk gün vücut ağırlıkları ölçüldükten sonra beş gruba ayrıldı (Resim 3.1).

1. Kontrol grubu hiçbir işlem görmedi.
2. Taşıyıcı grubuna 20 gün boyunca her gün i.p olarak 50 mg/kg/gün mısır yağı enjekte edildi.
3. LSEO grubuna 20 gün boyunca mısır yağında seyreltilmiş LSEO i.p olarak 50 mg/kg/gün enjekte edildi
4. CdCl_2 grubuna 20 gün boyunca serum fizyolojik içerisinde çözünmüş 2 mg/kg/gün CdCl_2 i.p olarak enjekte edildi.

5. CdCl_2 + LSEO grubuna i.p. olarak ve 20 gün boyunca her gün 2 mg/kg/gün CdCl_2 ve 50 mg/kg LSEO enjekte edildi.





Resim 3.1. Deney hayvanlarının kafeslerde gruplandırılması

LSEO grubundaki sıçanlar için 4 ml LSEO (Tabia, TÜRKİYE), 75 ml mısır yağı içerisinde seyreltilerek hayvan ağırlıklarına göre 20 gün boyunca 50 mg/kg/gün i.p olarak uygulandı (Resim 3.2). CdCl_2 grubundaki hayvanlar için 225 mg CdCl_2 (Sigma, USA) hassas terazide tartılarak 75 ml serum fizyolojik içerisinde çözüldü ve hayvan ağırlıklarına göre 20 gün boyunca 2 mg/kg/gün i.p olarak uygulandı.



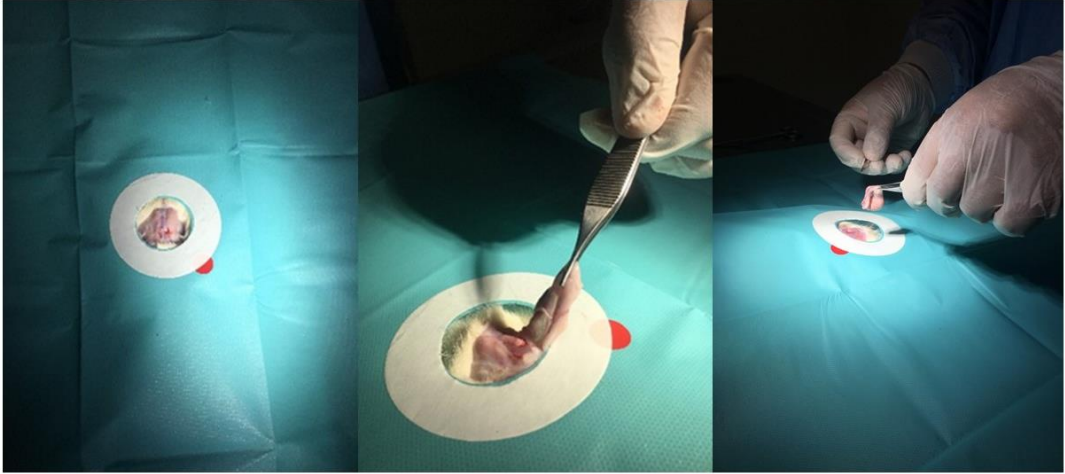
Resim 3.2. İntraperitoneal enjeksiyon

20 gün sonunda gruptaki tüm hayvanlara intramüsküler olarak kombine edilmiş anestezi 10 mg/kg xlasine ve 60 mg/kg ketamine hydrochloride uygulandı ve sıçanların ağırlıkları tartıldı. Daha sonra histolojik yöntemler için sıçanlar sakrifiye edildi ve tüm sağ testisler çıkarıldı (Resim 3.4). Testislerin tamamı 24 saat Davidson fiksatif

içerisine alındı (Tablo 3.1). Takiben tüm testisler 1 ay süre ile %10 formalin solüsyonunda fikse edildikten sonra doku takibine başlandı.



Resim 3.3. Anestezi ve ağırlık tartımı



Resim 3.4. Testislerin çıkarılması

3.3. Veri Toplama Araçları

3.3.1. Tespit Solüsyonları

Davidson fiksativ

Davidson fiksativ içerikleri Tablo 3.1’de gösterilmiştir (Miki vd., 2018).

Tablo 3.1. 100 ml için Davidson fiksativ hazırlanış oranları

37% Formaldehit	22 mL
Saf Etanol	33 mL
Glasial asetik asit	12 mL
Distile su	33 mL

%10 Formalin fiksativ

%10 formalin solüsyonu içerikleri Tablo 3.2’de gösterilmiştir (Miki vd., 2018).

Tablo 3.2. 100 ml için formalin fiksativ hazırlanış oranları

37% Formaldehit	10 mL
Musluk suyu	90 ml

3.3.2. Doku Takibi ve Bloklama

Testis dokuları 24 saat Davidson fiksativ içinde bekletilerek fikse edildi. Sonrasında testis dokuları kasetlere konularak doku takip cihazına (LEICA TP 1020) yüklendi ve aşağıda belirtilen programda doku takibi yapıldı.

Dehidrasyon;

- 1 saat %70 Etanol I
- 1 saat %70 Etanol II
- 2 saat %80 Etanol
- 1 saat %96 Etanol I
- 1 saat %96 Etanol II
- 2 saat %96 Etanol III
- 2 saat %96 Etanol IV

Şeffaflandırma;

- 1 saat Ksilen I
- 1 saat Ksilen II
- 1 saat Ksilen II

Parafinizasyon;

- 1 saat parafin I
- 1 saat parafin II

Dokular parafine doyduktan sonra doku takip cihazından çıkarıldılar ve bloklama cihazında (LEICA EG1150 H) metal kasetlere yerleştirilerek blok haline getirildiler.

3.3.3. Kesit Alma

Işık mikroskopik incelemeler için mikrotom cihazında (Thermo SCIENTIFIC FINESSE ME +) 5 µm kesitler alındı. Alınan kesitler 40 °C’de su banyosunda bekletilerek lamaların üzerine alındı. Johnsen skor analizi ve seminifer tübül çapı ölçümü için tüm gruptaki testislerden 5 µm 10’ar adet kesit alındı. Hematoksilen Eozin (H-E) ile boyandı (Ankle ve Joshi, 2011).

3.3.4. Hematoksilen Eosin (H-E) Boyama

- Tüm kesitler 1 saat 60 °C’de bekletilerek fazla parafinlerinden arındırıldı.
- Kesitler Etüv sonrası ksilen I de 15 dk bekletildi.
- Kesitler ksilen II de 15 dk bekletildi.
- Kesitler %100 etanol I de 2 dk bekletildi.
- Kesitler %100 etanol II de 2 dk bekletildi.
- Kesitler %96 etanol II de 2 dk bekletildi.
- Kesitler %80 etanol II de 2 dk bekletildi.
- Kesitler distile suda 5 dk bekletildi.
- Kesitler Hematoksilende 6 dk bekletildi.
- Kesitler akarsu altında 5 dk bekletildi.

- Kesitler amonyaklı suda mor rengini alana kadar yaklaşık 10 sn bekletildi.
- Kesitler akarsuda 30 sn bekletildi.
- Kesitler distile suda 5 dk bekletildi.
- Kesitler Eozinde 5 dk bekletildi.
- Kesitler iki farklı distile su kabına batırılıp çıkarıldı (fazla Eozinin akması için).
- Kesitler %80 etanol II de 1 dk bekletildi.
- Kesitler %96 etanol II de 1 dk bekletildi.
- Kesitler %100 etanol I de 1 dk bekletildi.
- Kesitler %100 etanol II de 1 dk bekletildi.
- Kesitler ksilen I de 15 dk bekletildi.
- Kesitler ksilen II de 15 dk bekletildi.
- Boyanan preparatlar entellan damlatılarak lamel ile kapatıldı.

3.3.5. Johnsen Testiküler Skoru

H-E ile boyanan testis kesitleri için her gruptan 10 adet testis kesiti incelendi. Her kesitte mikroskop altında 20 seminifer tübül incelendi ve her tübül 1-10 puan aralığında skorlandı (Tablo 3.3). Daha sonra grup skorlarının ortalamaları alındı ve gruplar bu skorlara göre değerlendirmeye alındı. $P < 0.05$ olan gruplar arası farklılık istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi (Johnsen, 1970).

Tablo 3.3. Johnsen Testiküler Skor Tablosu

Skor	Histolojik Bulgular
1	Seminifer tübüllerde hiçbir hücre yok
2	Seminifer tübüllerde sadece Sertoli hücresi var
3	Sadece az sayıda spermatogonia var.
4	Spermatozoa ve spermatid yok, birkaç spermatosit ve çok sayıda spermatogonia var.
5	Spermatozoa ve spermatid yok, çok sayıda spermatosit ve spermatogonia var.
6	Spermatozoa yok, birkaç spermatid ve çok sayıda spermatosit ve spermatogonia var.
7	Spermatozoa yok, çok sayıda spermatid, spermatosit ve spermatogonia var.
8	Birkaç spermatozoa, çok sayıda spermatid, spermatosit ve spermatogonia var.
9	Çok sayıda spermatozoa, organize olmayan germinal epitel
10	Organize spermatogenez ve epitel

Kaynak: Johnsen, 1970.

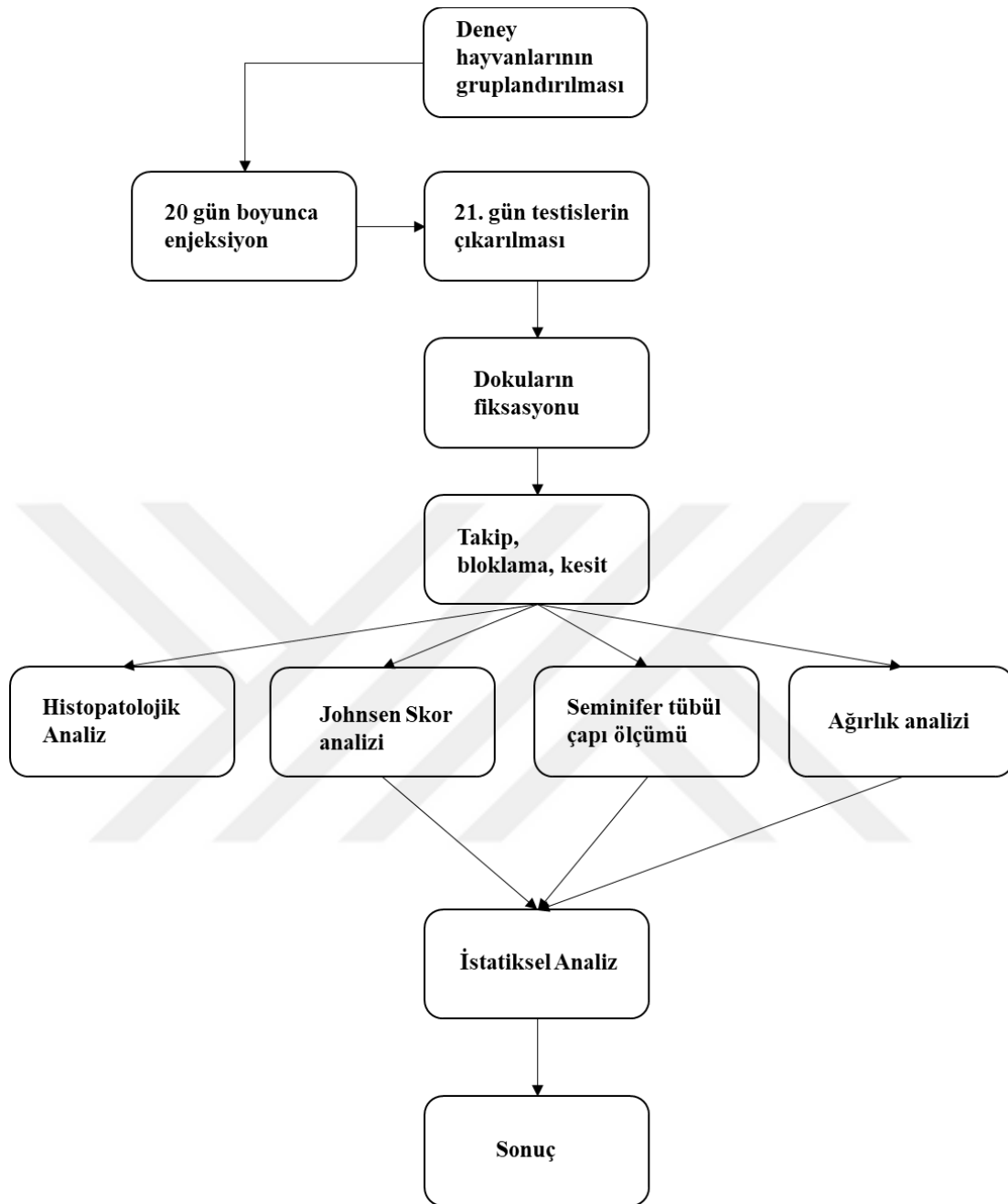
3.3.6. Seminifer Tübül Çaplarının Ölçümü

H-E boyama yapılmış olan tüm deney grubundaki hayvanlardan 10 kesit alınıp her kesitten rastgele seçilmiş 20 seminifer tübül çapı kameralı mikroskop (NIKON ECLIPSE 80 i) kullanılarak ölçülmüştür.

3.4. Veri Toplama Süreci

Çalışma ilk 21 gün Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi ardından Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı laboratuvarlarında gerçekleştirilmiştir. Çalışma toplamda 70 gün sürmüştür. Veriler hayvan ağırlığı analizi, histopatolojik analiz, Johnsen testiküler skor analizi, seminifer tübül çapı ölçüm analizi ve istatistiksel analiz yöntemleri uygulanarak toplanmıştır.

3.5. Deneysel Kurgu



Şekil 3.5. Çalışmanın planının şema ile gösterimi

3.6. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizler SPSS 17.0 for Windows (SPSS Inc., Chicago, Illinois, ABD) yazılımı kullanılarak yapıldı. Sonuçlar aritmetik ortalama $\pm$ standart hata (SEM) olarak ifade edilmiştir. $P < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı bir farkı gösterdiği kabul edilmiştir.

3.7. Etik Onay

Araştırmada kullanılan 35 adet Wistar Albino sıçanı için Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu’nun (MUDEM-HADYЕК) 09/04/2021 tarihli 20/21 karar numaralı toplantısından onay alınmıştır (Ek 1.).

3.8. Araştırmanın Sınırlılıkları

Bu araştırmanın Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Laboratuvarlarında histolojik teknikler kullanılarak yapılması araştırmanın sınırlılıklarıdır.



4. BULGULAR

4.1. Ağırlık Analizi

Deney hayvanları deneyin ilk günü rastgele gruplara ayrıldıktan sonra ve ilaç uygulamaları tamamlandıktan 24 saat sonra tartıldı. Ağırlık ortalamaları Tablo 4.1 ve 4.2’de özetlendi. Deney sonrası grupların vücut ağırlık ortalamaları incelendiğinde Kontrol ile taşıyıcı, LSEO ve LSEO + CdCl₂ gruplarının ağırlıkları arasında istatistiksel bir fark görülmedi. CdCl₂ grubunda ise kontrol ve diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlemlendi (Tablo 4.2).

Tablo 4.1. Deney başlangıcında vücut ağırlığı ortalamaları. Aritmetik ortalama ± standart hata (SEM)

Grup	Deney öncesi ağırlık
Kontrol (n=7)	239.57±0.97
Taşıyıcı (n=7)	230.28±14.59
LSEO (n=7)	245.85±2.41
CdCl ₂ (n=7)	244.28±1.35
LSEO + CdCl ₂ (n=7)	241.42±1.21

Tablo 4.2. Deney sonunda vücut ağırlıkları ortalamaları. Aritmetik ortalama ± standart hata (SEM)

Grup (n=7)	Deney sonunda ağırlık
Kontrol (n=7)	324.00±5.23
Taşıyıcı (n=7)	327.00±7.64
LSEO (n=7)	333.57±10.30
CdCl ₂ (n=7)	257.00±7.83 ^a
LSEO + CdCl ₂ (n=7)	312.71±17.76

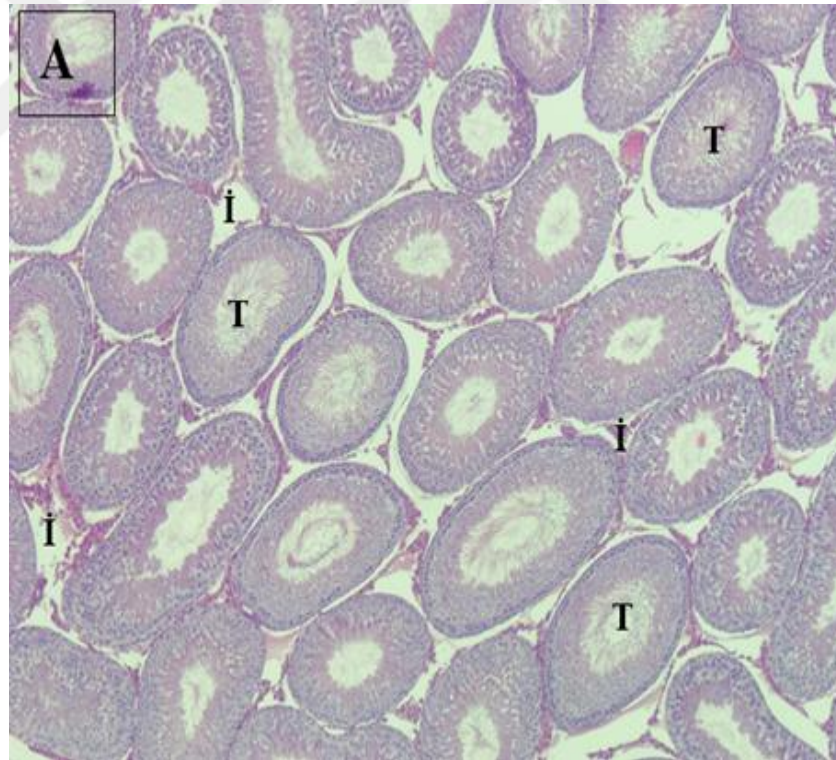
^ap<0,01 CdCl₂ grubu; kontrol, taşıyıcı, LSEO ve LSEO + CdCl₂’den anlamlı farklılık gösterdi.

4.2. Histolojik Bulgular

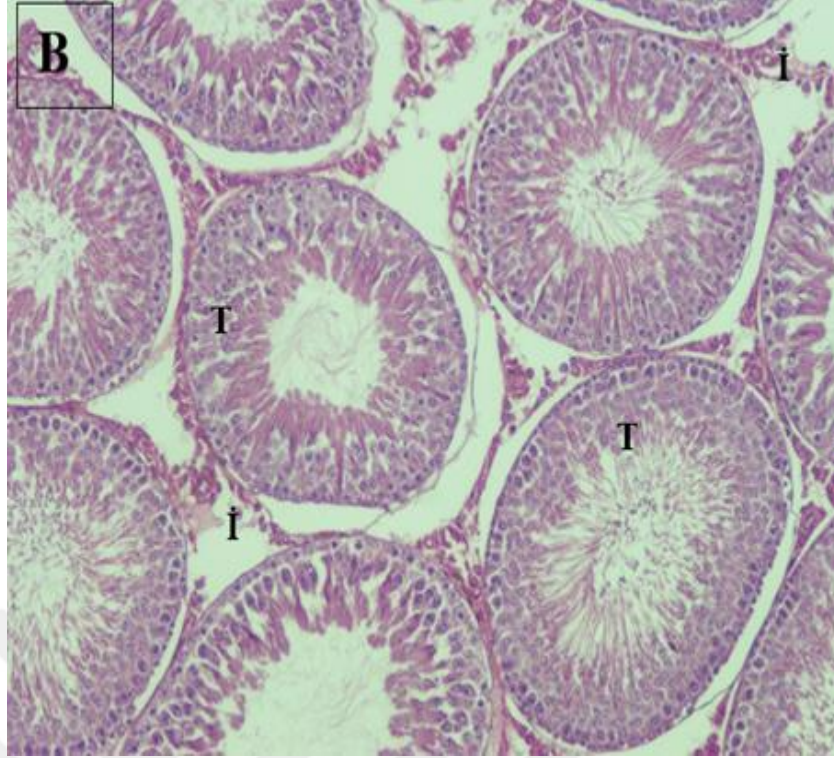
4.2.1. Hematoksilen-Eozin boyama

Kontrol ve deney gruplarına ait kesitlerde seminifer tübül sınırları, seminifer tübüllerde germ hücreleri, Sertoli hücreleri ve değişik evrelerdeki tübüllerde bulunan spermatogonyum, spermatosit, spermatid ve spermatozoaları içeren spermatogenik seri hücreleri yapıları incelendi.

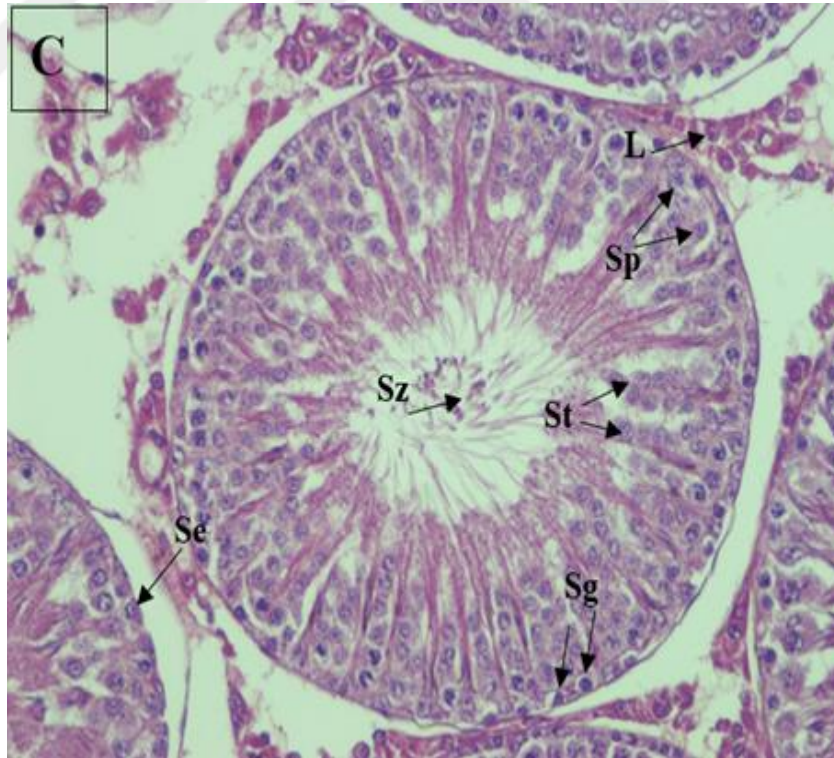
Kontrol grubu kesitlerinde Seminifer tübüller yuvarlak veya oval şekilli izlendi. Tübül yapılarının arasında interstisyel bağ dokusu görüldü (Resim 4.1 ve 4.2). Seminifer tübüller içinde Sertoli hücreleri ve çeşitli gelişim aşamalarında spermatogenik seri hücreler izlendi. Tübülün periferindeki hücreler tübül bazal membranına oturmuştu, bazal membranın etrafında peritübüler miyoid hücreler izlendi. İnterstisyel doku içinde kapiller kan damarları ve Leydig hücreleri izlendi (Resim 4.3, 4.4 ve 4.5). Kontrol grubunda testis yapısı normal histolojik yapıda görüldü.



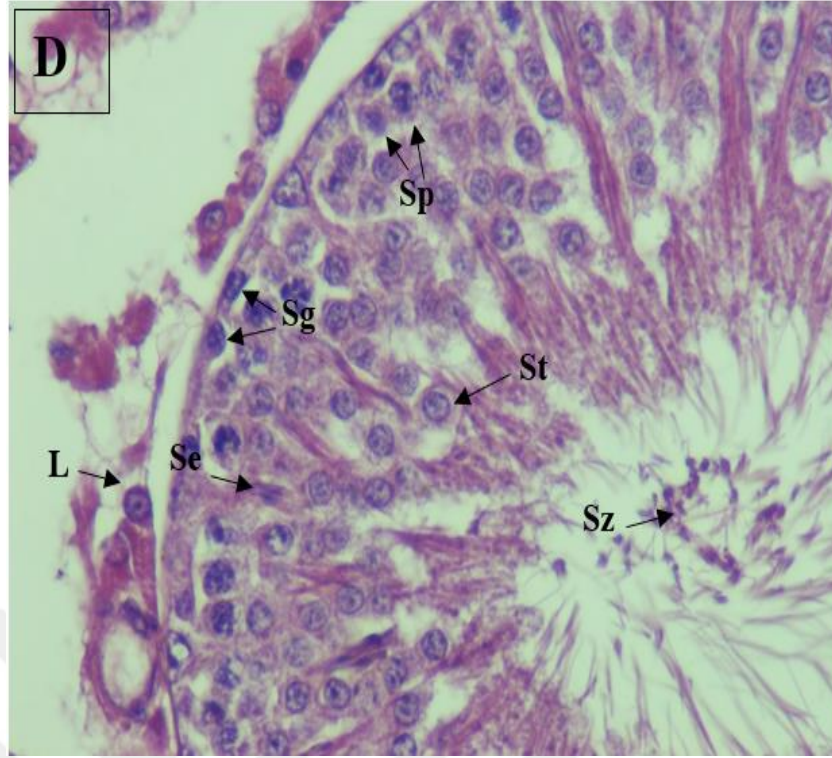
Resim 4.1. Kontrol grubu Seminifer tübüller (T), interstisyum (İ) H-E boyama; X40



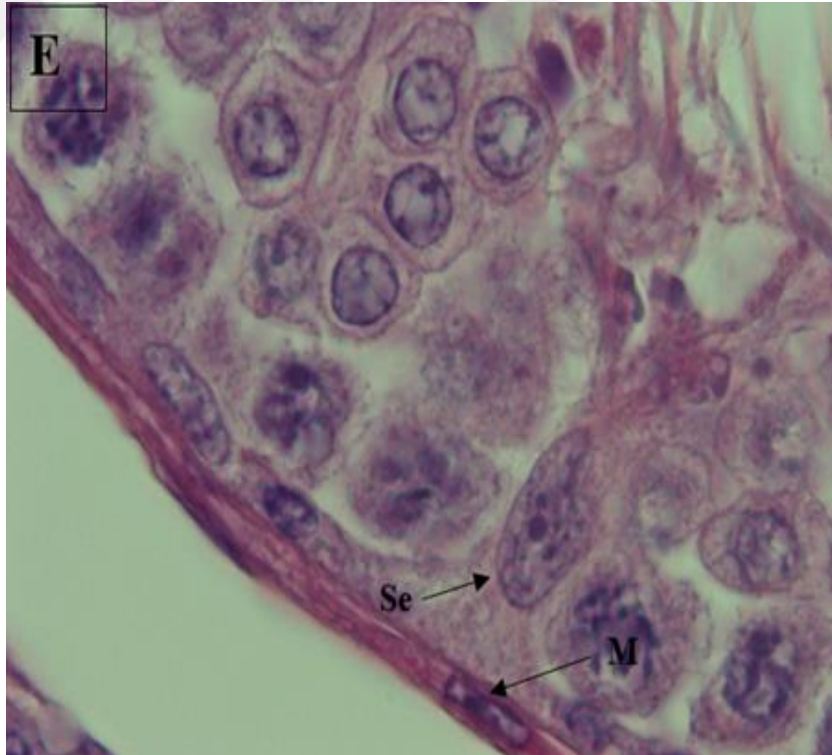
Resim 4.2. Kontrol grubu Seminifer tübüller (T), interstisyum (İ). H-E boyama; X100



Resim 4.3. Kontrol grubu Sertoli hücreleri (Se), spermatogonyumlar (Sg), spermatositler (Sp), spermatidler (St), spermatozoalar (Sz), Leydig hücreleri (L). H-E boyama; X200

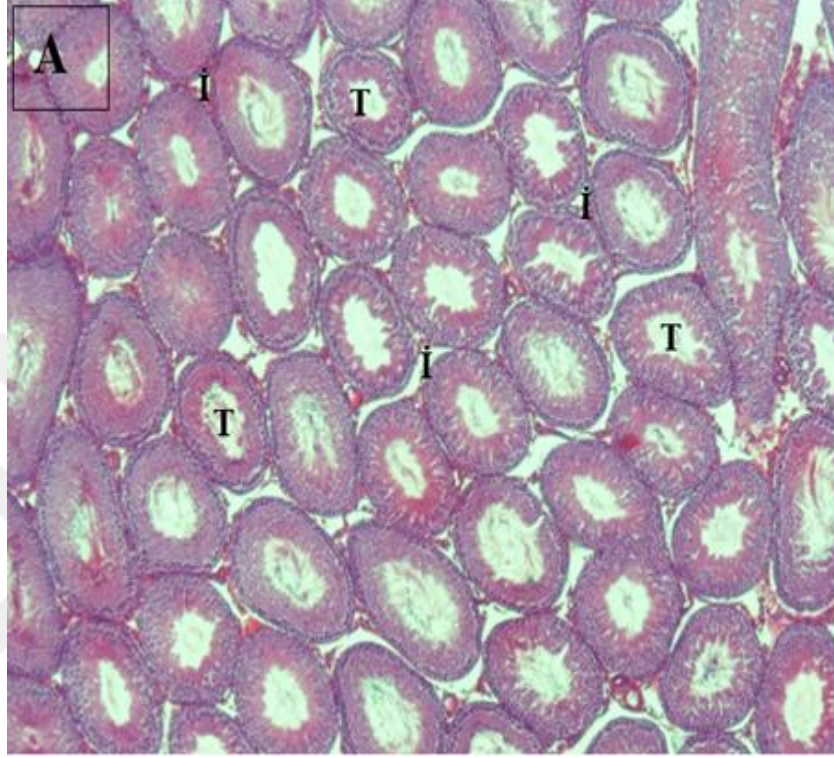


Resim 4.4. Kontrol grubu Sertoli hücreleri (Se), spermatogonyumlar (Sg), spermatozitler (Sp), spermatidler (St), spermatozoalar (Sz), Leydig hücreleri (L). H-E boyama; X400

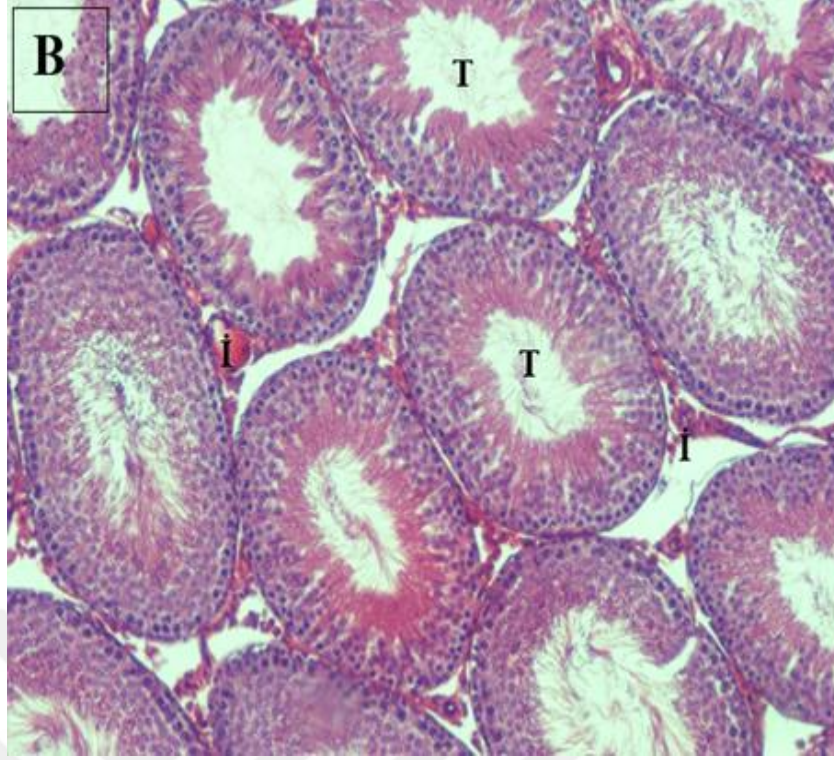


Resim 4.5. Kontrol grubu Sertoli hücreleri (Se), peritübüler miyoid hücre (M), H-E boyama; X1000

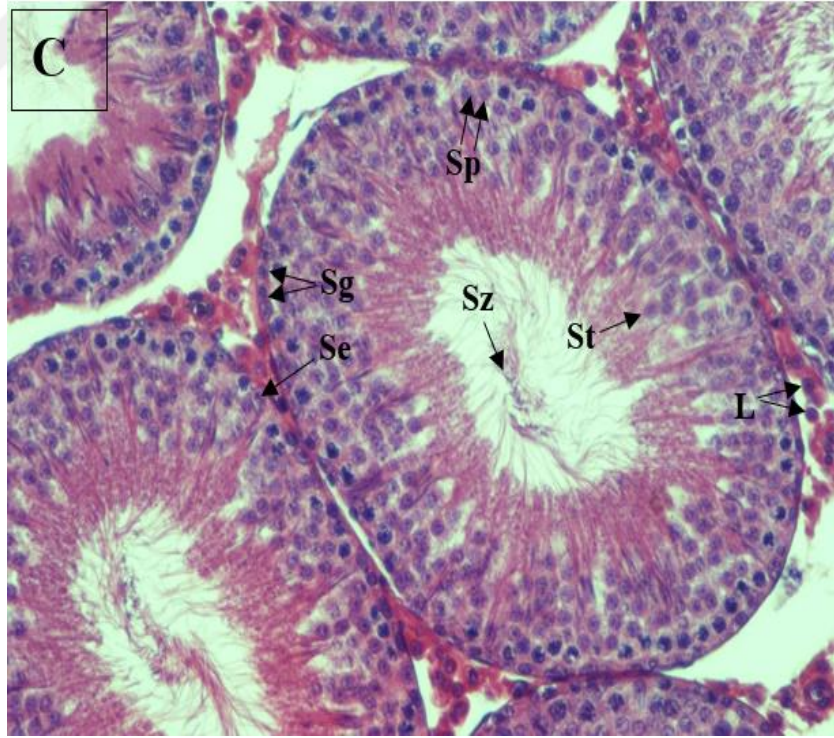
Taşıyıcı grubuna ait kesitlerin incelenmesinde, kontrol grubundakine benzer şekilde seminifer tübüller, interstisyum, spermatogonyumlar, Sertoli hücreleri, primer ve sekonder spermatositler ile spermatidler, spermatozoonlar, Leydig hücreleri ve peritübüler miyoid hücreleri normal histolojik görünümde izlendiler (Resim 4.6-4.10).



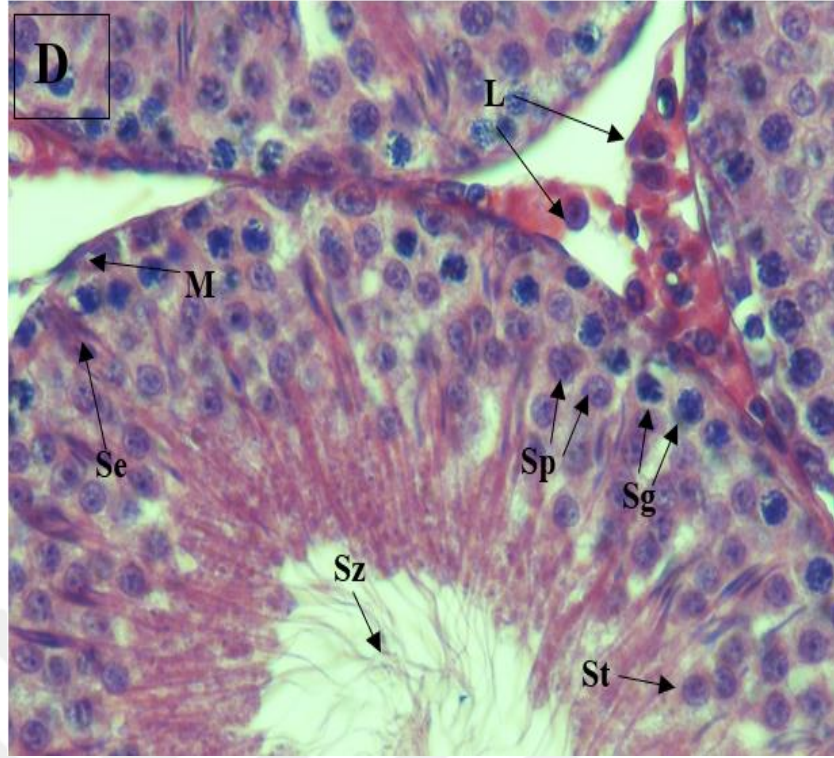
Resim 4.6. Taşıyıcı grubu Seminifer tübüller (T), interstisyum (İ). H-E boyama; X40



Resim 4.7. Taşıyıcı grubu Seminifer tübüller (T), interstisyum (İ) H-E boyama; X100



Resim 4.8. Taşıyıcı grubu Sertoli hücreleri (Se), spermatogonyumlar (Sg), spermatisitler (Sp), spermatidler (St), spermatozoalar (Sz), Leydig hücresi (L). H-E boyama; X200

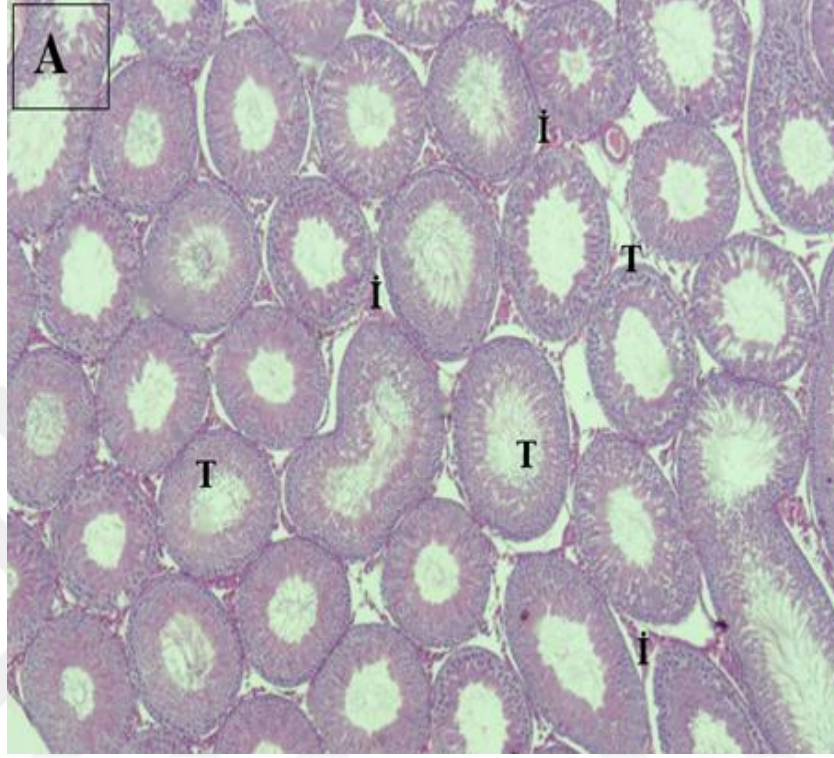


Resim 4.9. Taşıyıcı grubu Sertoli hücreleri (Se), spermatogonyumlar (Sg), spermatositler (Sp), spermatidler (St), spermatozoalar (Sz), Leydig hücresi (L) ve peritübüler miyoid hücreleri (M) görülmektedir. H-E boyama; X400

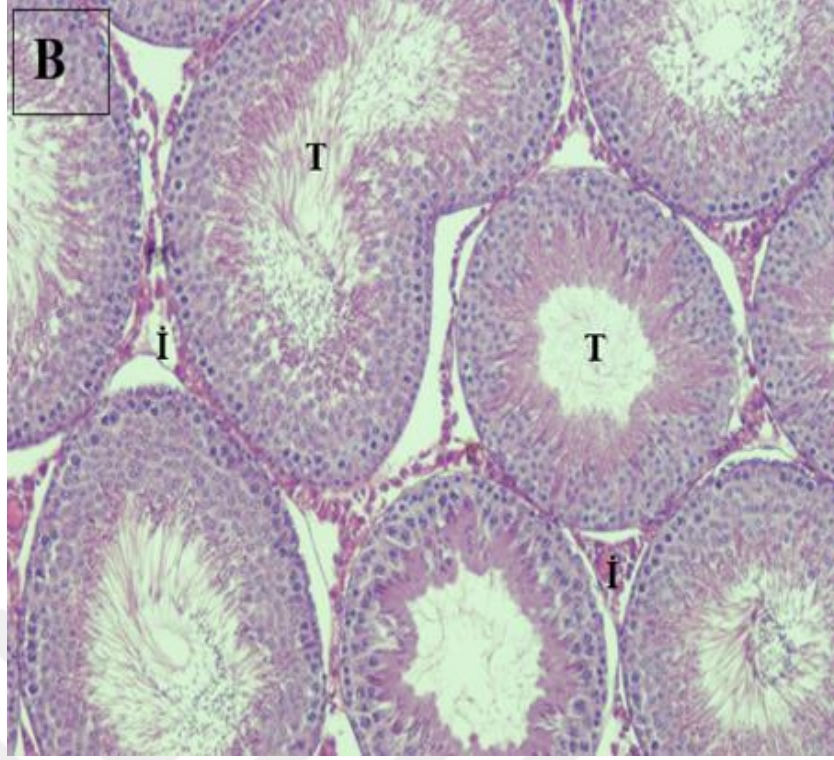


Resim 4.10. Taşıyıcı grubu Sertoli hücreleri (Se). H-E boyama; X1000

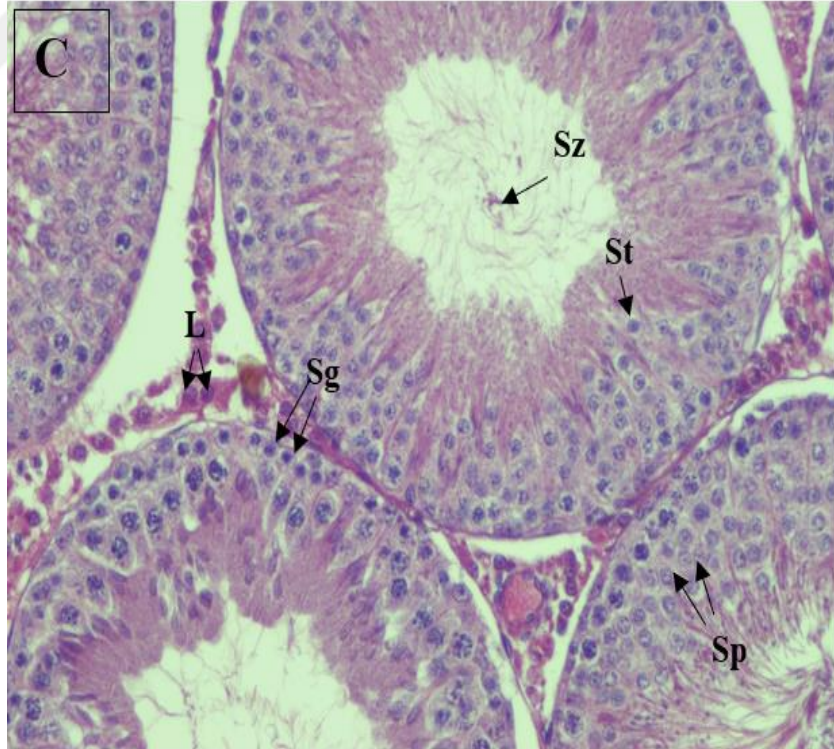
LSEO grubuna ait kesitlerde de kontrol grubu ve taşıyıcı gruba benzer şekilde normal histolojik seminifer tübül içinde yerleşmiş Sertoli hücreleri ve spermatogenik seri hücreleri izlendi. İnterstisyel bağ doku içinde Leydig hücreleri ve kapiller damarlar gözlendi (Resim 4.11-4.14).



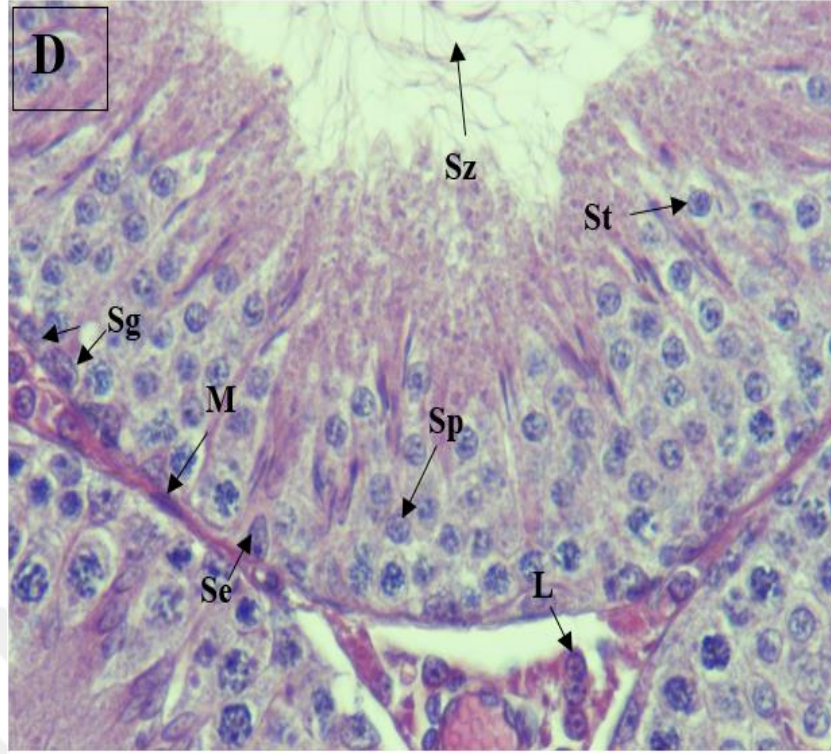
Resim 4.11. LSEO grubu Seminifer tübüller (T), interstisyum (İ), H-E boyama; X40



Resim 4.12. LSEO grubu Seminifer tübüller (T), interstisyum (İ), H-E boyama; X100



Resim 4.13. LSEO grubu Spermatogonyumlar (Sg), spermatositler (Sp), spermatidler (St), spermatozoalar (Sz), Leydig hücreleri (L) görülmektedir. H-E boyama; X200

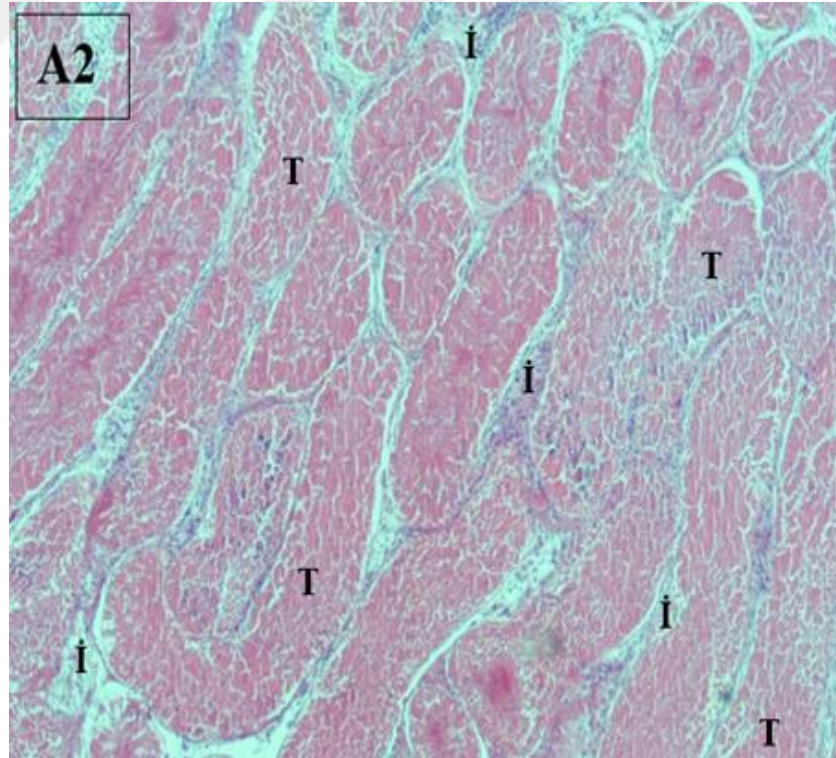


Resim 4.14. LSEO grubu Sertoli hücreleri (Se), spermatogonyumlar (Sg), spermatositler (Sp), spermatidler (St), spermatozoalar (Sz), Leydig hücreleri (L) ve peritübüler miyoid hücreleri (M) görülmektedir. H-E boyama; X400

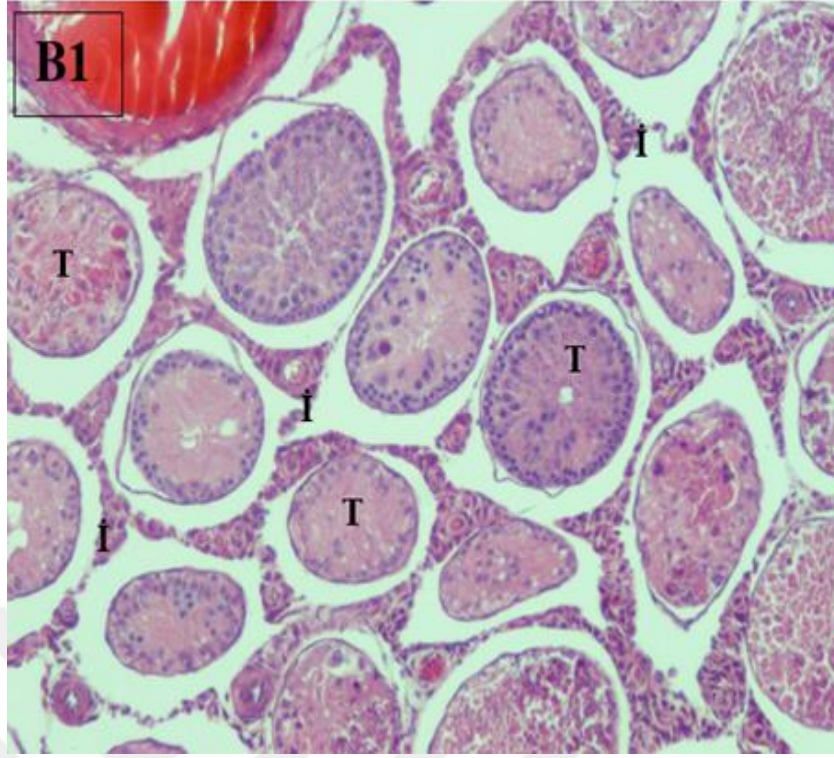
CdCl₂ grubuna ait histolojik incelemelerde germ hücrelerin kaybı en dikkat çekici özellikti. Germ hücreleri özellikle merkezdeki tübüllerde belirgin olarak dejenere olmuştu (Resim 4.16, 4.18, 4.20, 4.22), tunikea albuginea'ya yakın olan perifer bazı tübüllerde ise spermatogenik seri hücreler kısmen korunmuş olarak gözlendi. Periferdeki bu tübüllerin bazılarında yalnızca Sertoli hücreleri, bazılarında ise Sertoli hücreleri ile spermatogonyumlar, yer yer spermatositler izlendi. Ayrıca apoptotik hücreler ve çok çekirdekli polimorfik dev hücreler de görüldü. Tübüllerin bazal laminası ise korunmuştu (Resim 4.15, 4.17, 4.19, 4.21, 4.23). İnterstisyel alana bakıldığında bağ dokusunda fibrozis gözlendi. Testiste perifer ve merkezde Leydig hücrelerinin azaldığı gözlendi. Peritübüler miyoid hücreler ise normal histolojik yapılarını koruyordu (Resim 4.15-4.23).



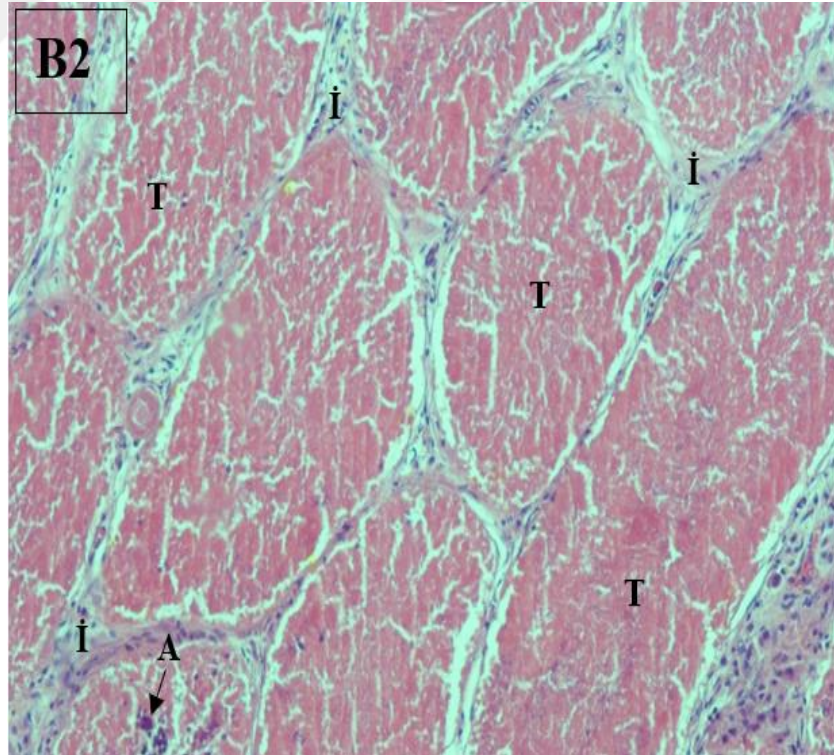
Resim 4.15. CdCl₂ grubu periferik bölge Seminifer tübüller (t), interstisyum (i). H-E boyama;
X40



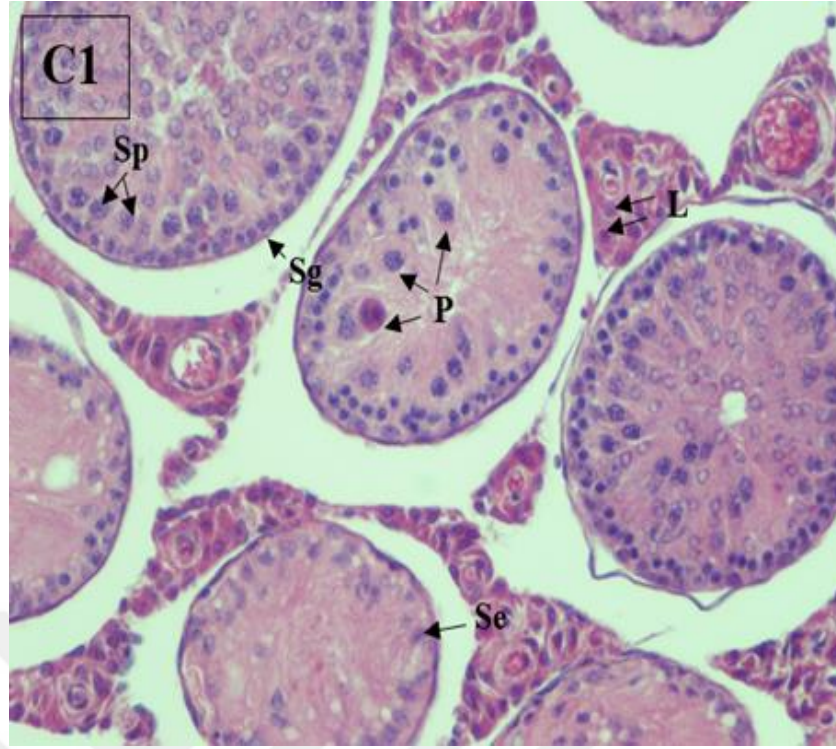
Resim 4.16. CdCl₂ grubu merkezi bölge Seminifer tübüller (t), interstisyum (i). H-E boyama;
X40



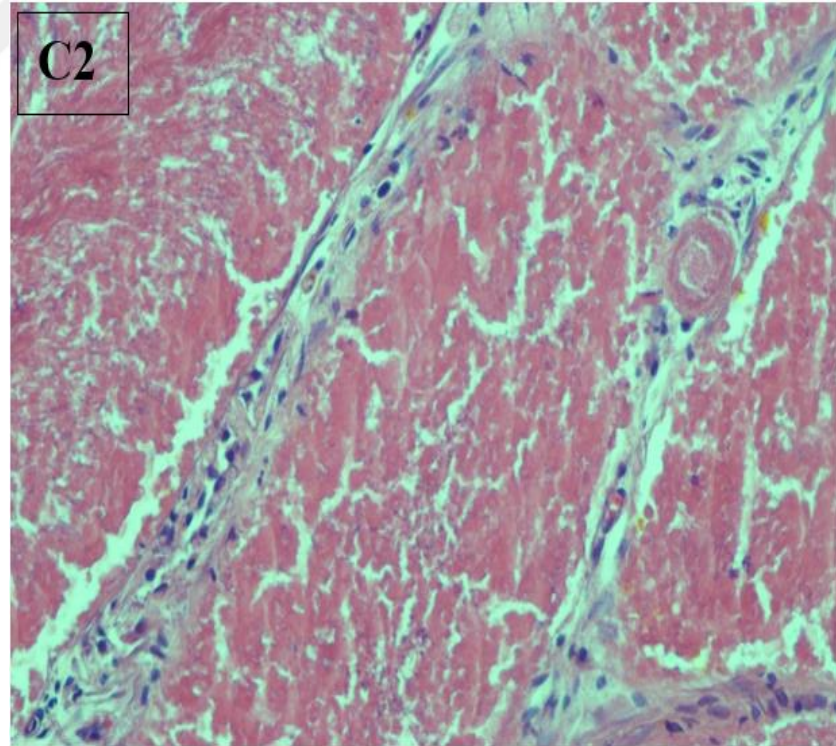
Resim 4.17. CdCl₂ grubu periferik bölge Seminifer tübüller (t), interstisyum (i). H-E boyama; X100



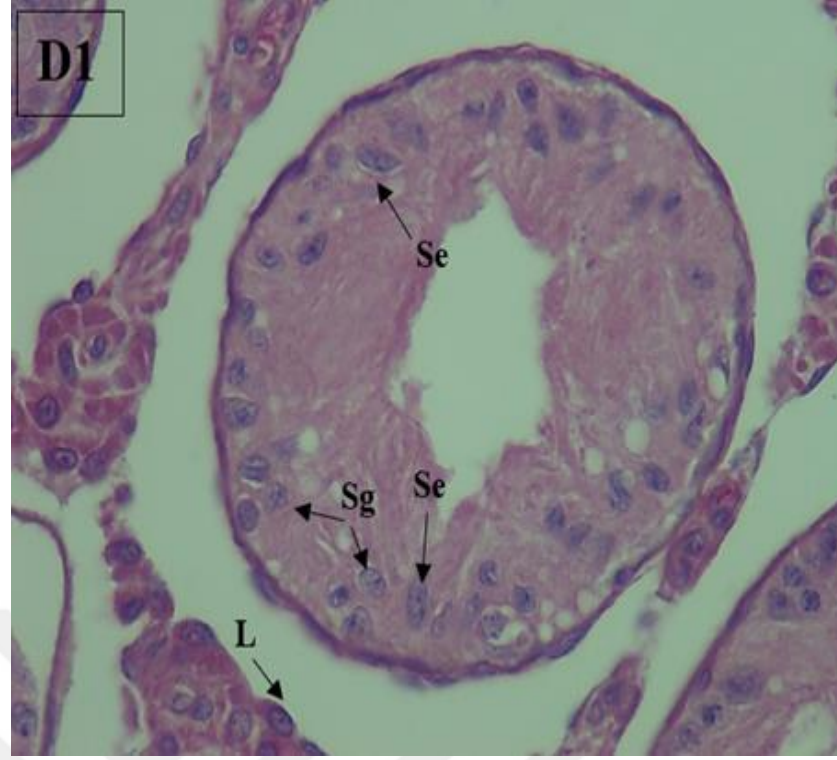
Resim 4.18. CdCl₂ grubu merkezi bölge Seminifer tübüller (T), interstisyum (İ) ve Apoptotik cisimcikler (A). H-E boyama; X100



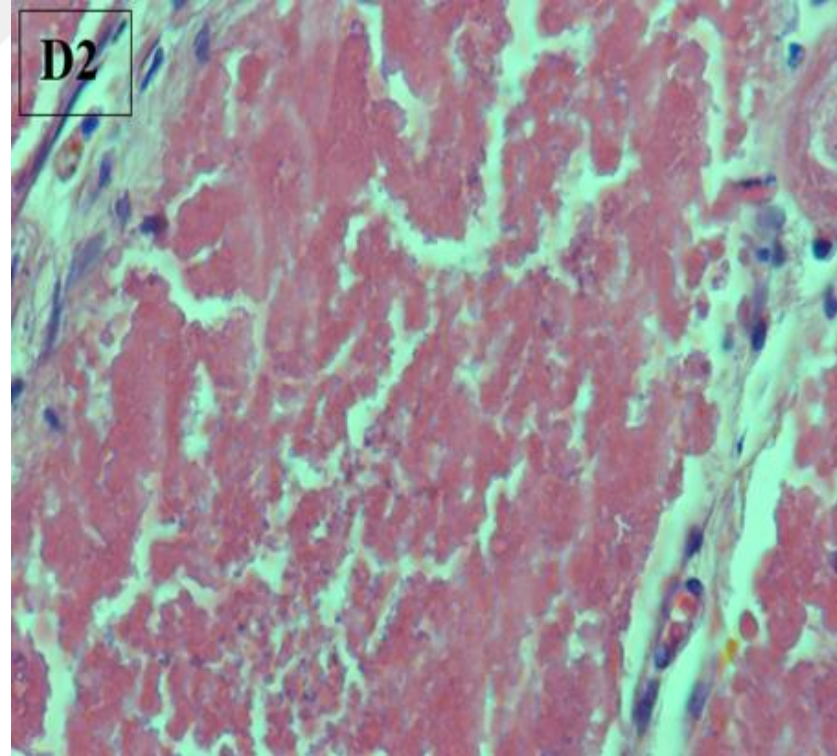
Resim 4.19. CdCl₂ grubu periferik bölge Sertoli hücreleri (Se), spermatogonyumlar (Sg), Leydig hücreleri (L) ve polimorfik hücreler (P). H-E boyama; X200



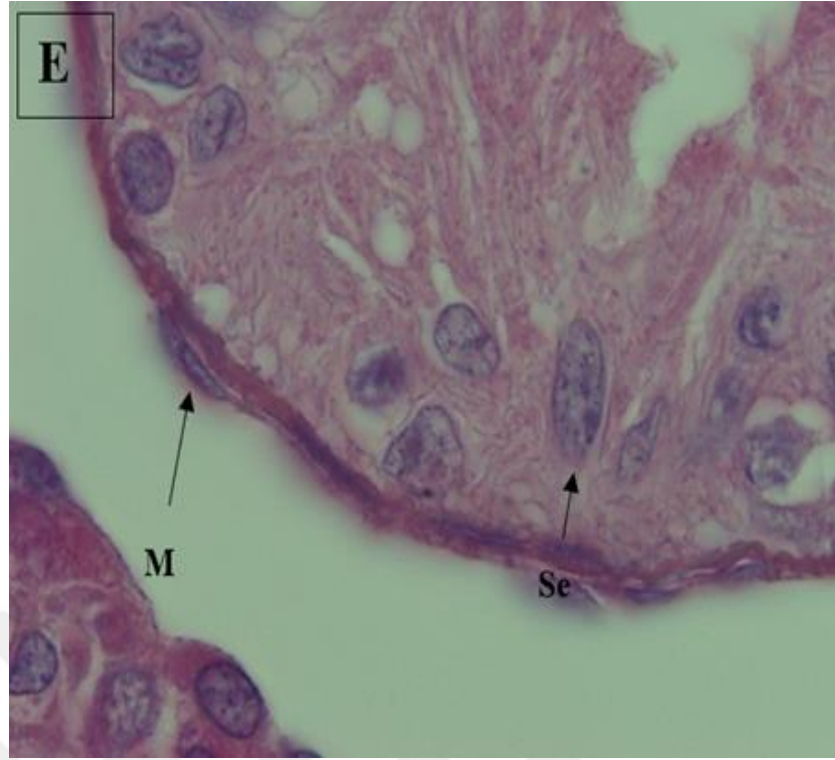
Resim 4.20. CdCl₂ grubu merkezi bölge H-E boyama; X200



Resim 4.21. CdCl₂ grubu periferik bölge Sertoli hücreleri (Se), spermatogonyumlar (Sg), Leydig hücreleri (L). H-E boyama; X400

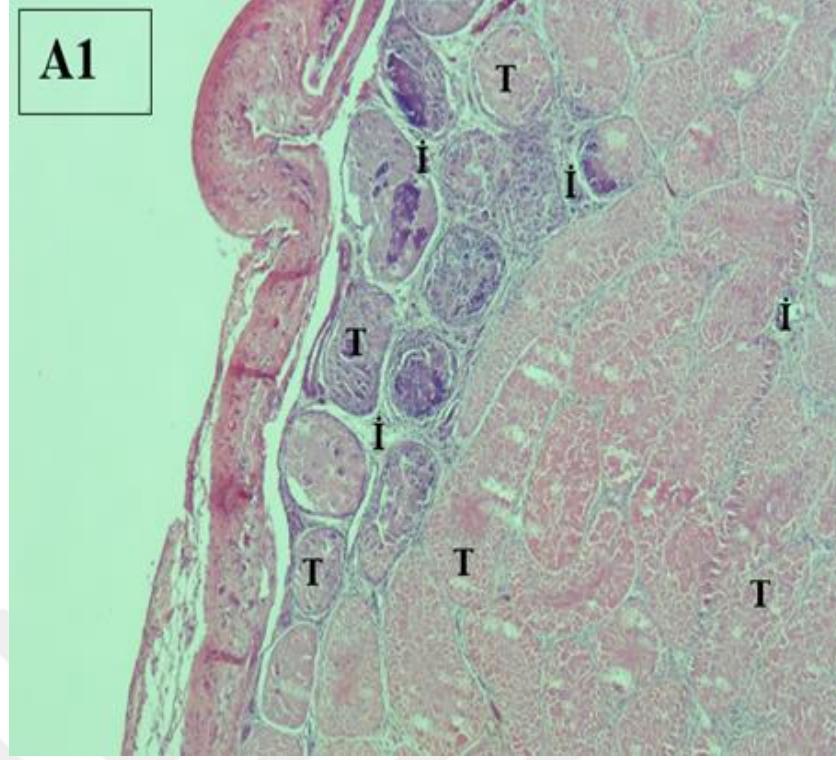


Resim 4.22. CdCl₂ grubu merkezi bölge H-E boyama; X400

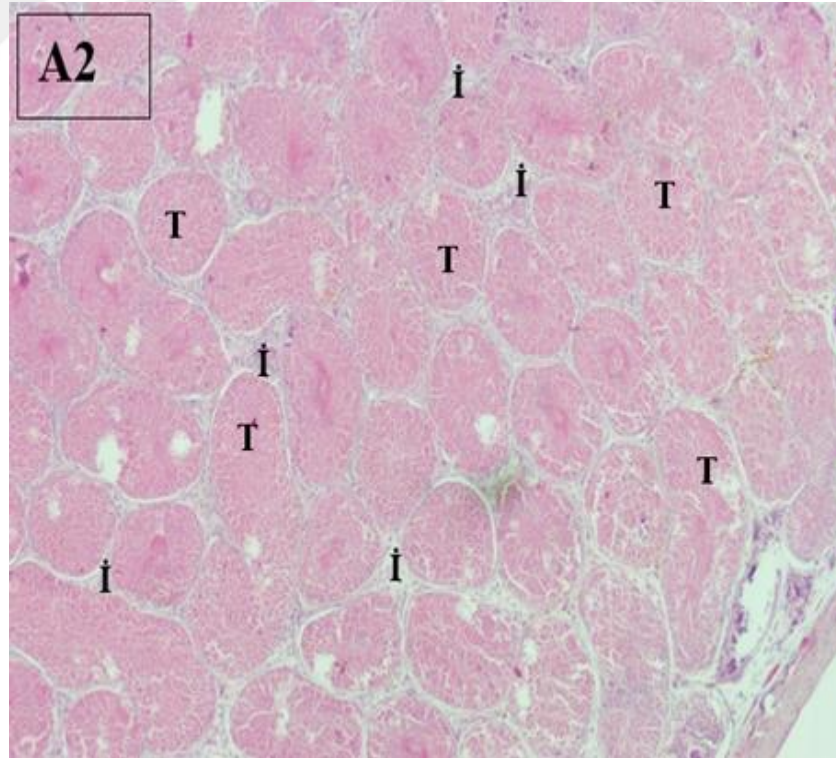


Resim 4.23. CdCl₂ grubu periferik bölge Sertoli hücreleri (Se), peritübüler miyoid (M). H-E boyama; X1000

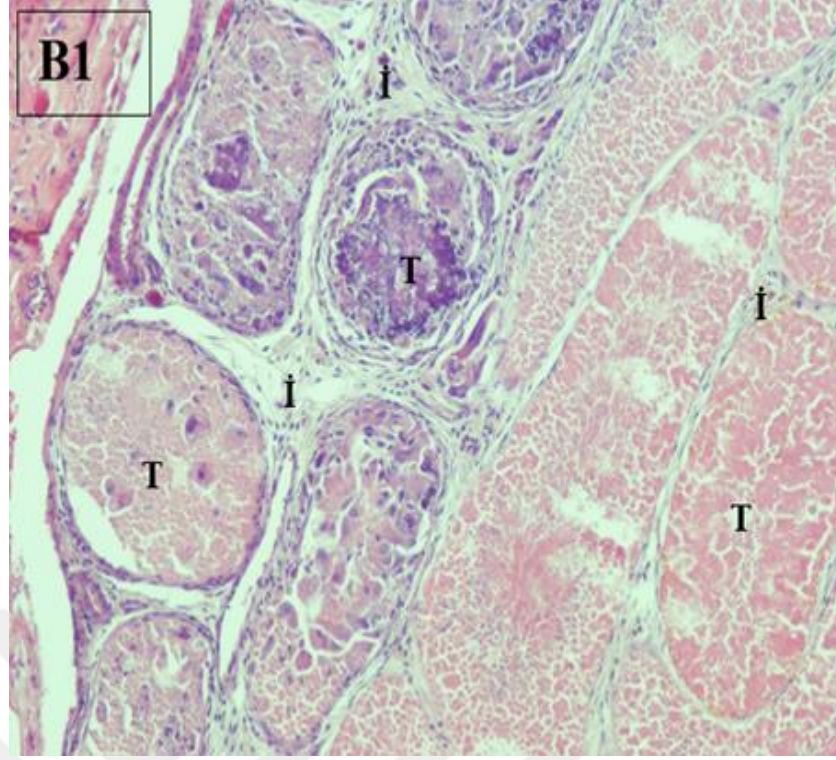
LSEO + CdCl₂ grubunda da CdCl₂ grubunda olduğu gibi Sertoli hücrelerinin ve germ hücrelerinin dejenere olduğu, Leydig hücrelerinin azaldığı, interstisyel dokuda fibrozis olduğu görüldü. Tübül bazal membranı ile peritübüler miyoid hücrelerin korunduğu gözlemlendi. Ayrıca tübül içinde apoptotik hücreler izlendi. CdCl₂ grubuna göre bu grupta belirgin bir histopatolojik düzelme izlenmedi (Resim 4.24-4.31).



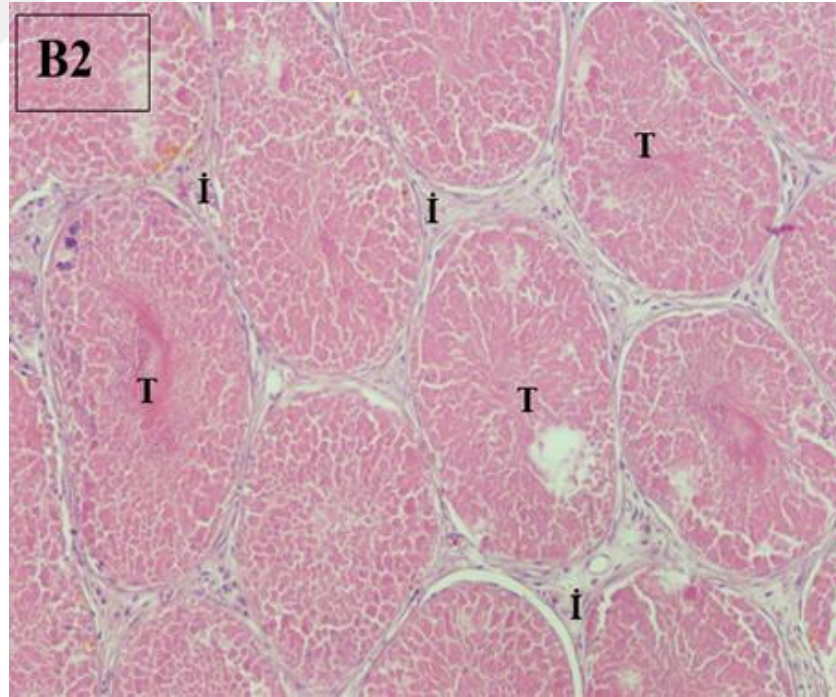
Resim 4.24. LSEO + CdCl₂ grubu periferik bölge Seminifer tübüller (t), interstisyum (i) H-E boyama; X40



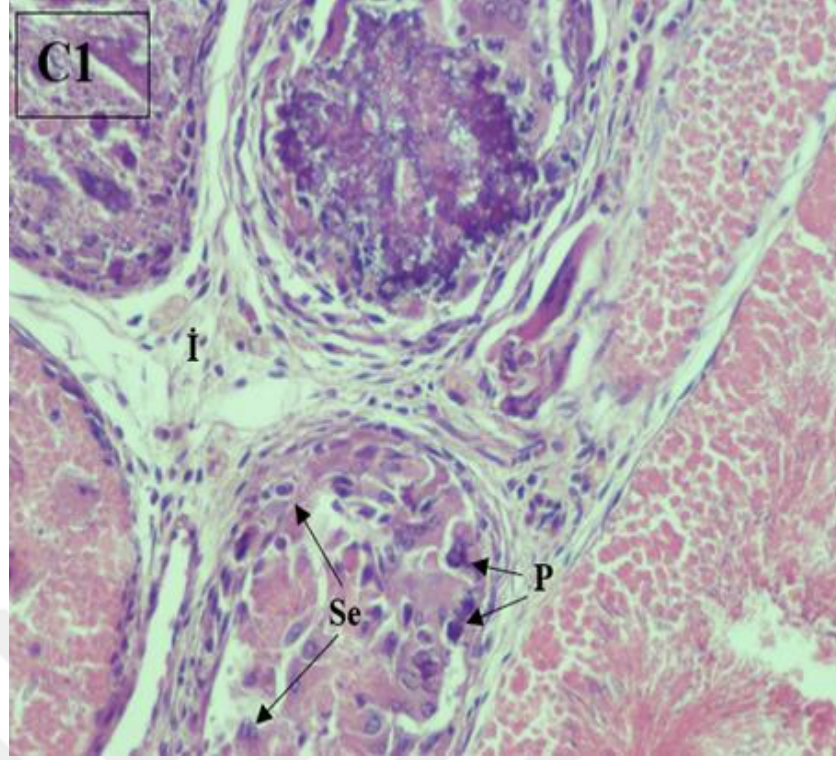
Resim 4.25. LSEO + CdCl₂ grubu merkezi bölge Seminifer tübüller (t), interstisyum (i) H-E boyama; X40



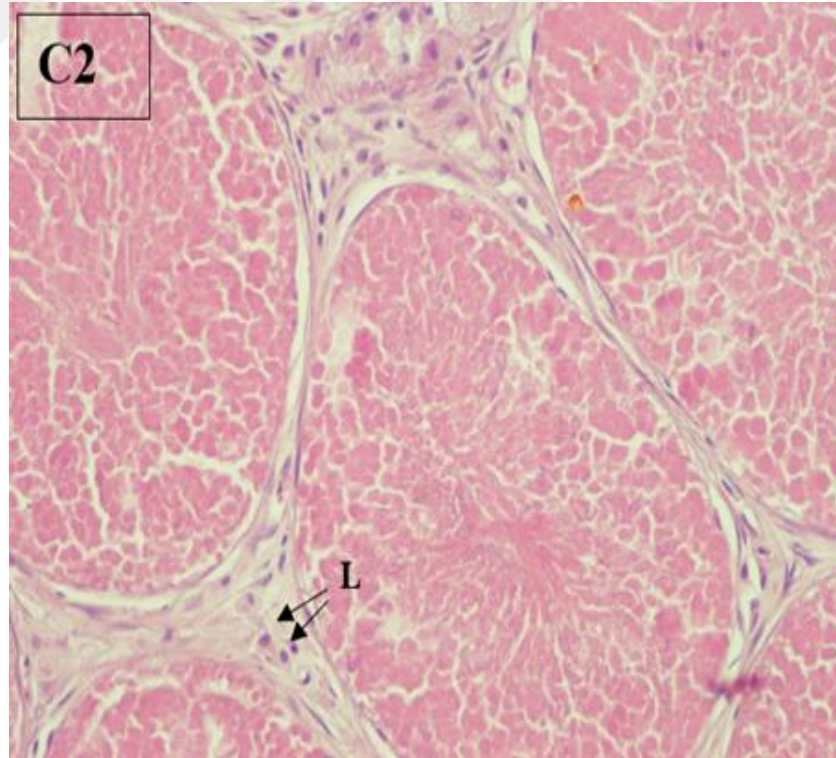
Resim 4.26. LSEO + CdCl₂ grubu periferik bölge Seminifer tübüller (t), interstisyum (i) H-E boyama; X100



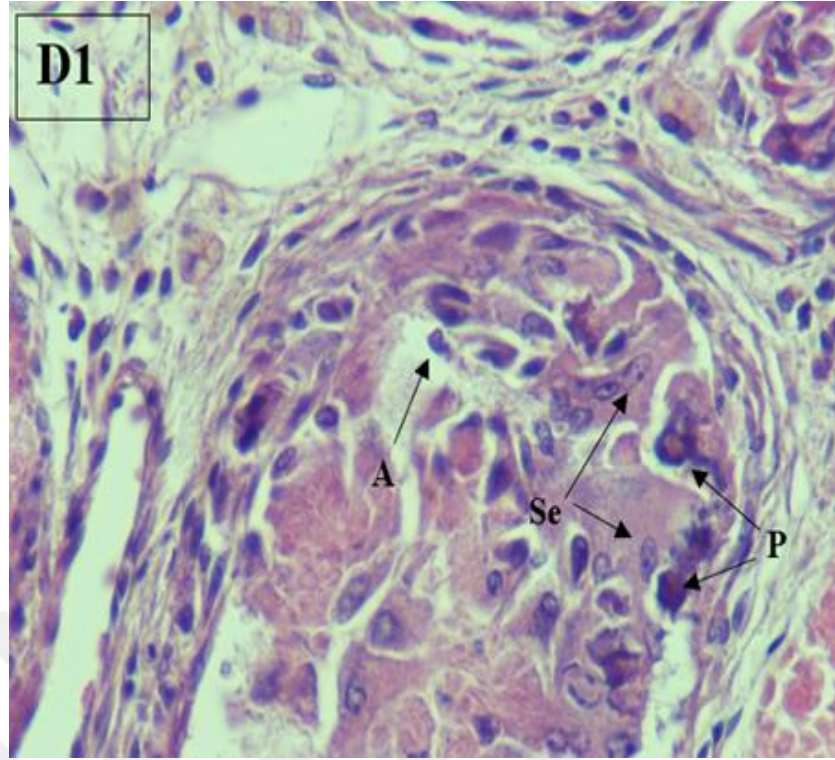
Resim 4.27. LSEO + CdCl₂ grubu merkezi bölge Seminifer tübüller (t), interstisyum (i) H-E boyama; X100



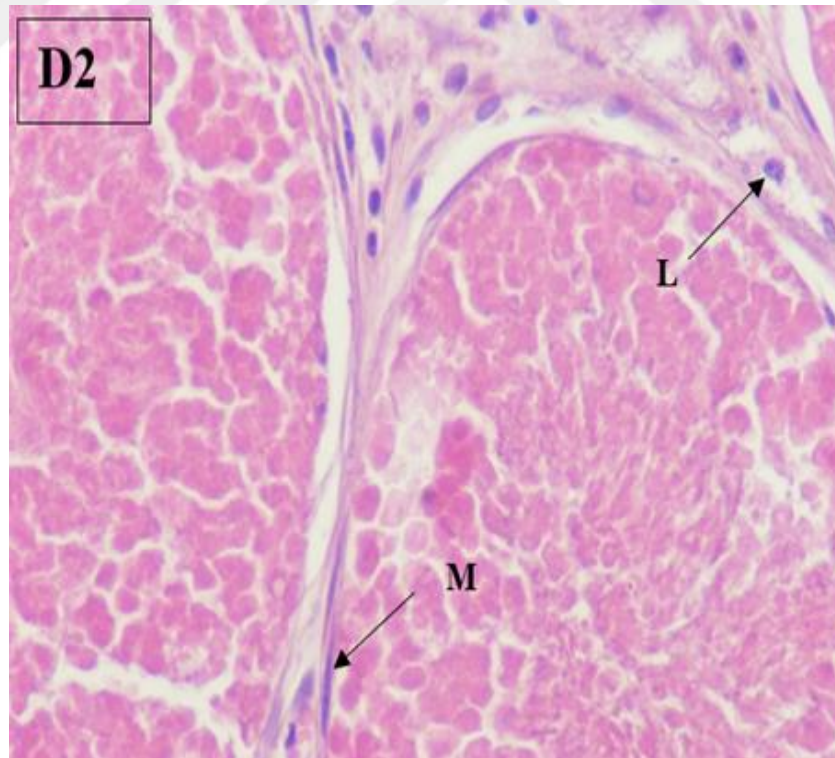
Resim 4.28. LSEO + CdCl₂ grubu periferik bölge Sertoli hücreleri (Se), interstisyum (i) ve polimorfik hücreler (P) H-E boyama; X200



Resim 4.29. LSEO + CdCl₂ grubu merkezi bölge Leydig hücreleri (L). H-E boyama; X200



Resim 4.30. LSEO + CdCl₂ grubu periferik bölge Sertoli hücreleri (Se) ve polimorfik hücreler (P). H-E boyama; X400



Resim 4.31. LSEO + CdCl₂ grubu merkezi bölge Leydig hücreleri (Se), peritübüler miyoid hücre (M). H-E boyama; X400

4.3. Morfometrik Bulgular

4.3.1. Johnsen Testiküler Skor Analizi

Johnsen testiküler skor analizi her deney hayvanından 10 kesit alınarak her kesitten rastgele seçilmiş 20 tübül incelenerek yapıldı. Skor analizi ve p değerleri Tablo 4.4'te gösterilmiştir. CdCl₂ ve LSEO + CdCl₂ grupları kontrol, taşıyıcı ve LSEO grupları ile istatistiksel olarak anlamlı farklılık gösterdi ($p \leq 0.001$). LSEO + CdCl₂ grubunda CdCl₂ grubu ile kıyaslandığında Johnsen skorlamasına göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı.

Tablo 4.3. Johnsen Testiküler Skor Analizi Sonuçları. Aritmetik ortalama $\pm$ standart hata (SEM)

Hayvan sırası	Kontrol (n=7)	Taşıyıcı (n=7)	LSEO (n=7)	CdCl ₂ (n=7)	LSEO + CdCl ₂ (n=7)
1	9.88	9.95	9.97	1.27	1.07
2	9.90	9.81	9.87	1.13	1.01
3	9.90	9.97	9.87	1.03	1.28
4	9.91	9.92	9.88	1.43	1.16
5	9.97	9.95	9.95	1	1.16
6	9.94	9.94	9.85	1	1.09
7	9.90	9.86	9.96	1	1.03
Ortalama	9.91$\pm$0.01	9.91$\pm$0.02	9.90$\pm$0.01	1.12$\pm$0.06^a	1.11$\pm$0.03^a

^a $p \leq 0.001$ CdCl₂ ve LSEO + CdCl₂ grubu; kontrol, taşıyıcı ve LSEO gruplarından anlamlı farklılık gösterdi.

Tablo 4.4. Johnsen Skor analizi p değerleri

Gruplar	P değeri
Kontrol- CdCl ₂	≤ 0.001
Kontrol-LSEO + CdCl ₂	≤ 0.001
Taşıyıcı- CdCl ₂	≤ 0.001
Taşıyıcı- LSEO + CdCl ₂	≤ 0.001
LSEO- CdCl ₂	≤ 0.001
LSEO-LSEO + CdCl ₂	≤ 0.001

4.3.2. Seminifer Tübül Çapı Ölçümü

Kontrol, Taşıyıcı, LSEO, CdCl₂ ve LSEO + CdCl₂ gruplarının kesitleri değerlendirilerek p değerleri Tablo 4.5 belirtilmiştir. CdCl₂ ve LSEO + CdCl₂ grupları kontrol, taşıyıcı ve LSEO grupları ile istatistiksel olarak anlamlı farklılık gösterdi ($p \leq 0.001$). Tübül çapları ölçümleri incelendiğinde LSEO + CdCl₂ grubu ile CdCl₂ grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi. CdCl₂ ile Seminifer tübül çaplarında belirgin küçülme izlendi. LSEO'nun bu küçülme üzerine belirgin bir koruyucu bir etki oluşturmadığı görüldü.

Tablo 4.5. Seminifer Tübül Çapı Ölçümü Değerleri. Aritmetik ortalama $\pm$ standart hata (SEM)

Hayvan sırası	Kontrol (n=7)	Taşıyıcı (n=7)	LSEO (n=7)	CdCl ₂ (n=7)	LSEO + CdCl ₂ (n=7)
1	289.86	294.20	293.26	193.61	204.18
2	301.69	292.02	294.50	213.30	189.01
3	295.90	293.28	293.28	202.10	203.47
4	291.00	288.24	291.76	197.65	195.13
5	294.05	292.45	290.31	207.89	192.09
6	298.11	290.12	289.97	191.39	192.54
7	300.14	289.22	286.43	204.11	201.63
Ortalama	295.82$\pm$1.69	291.36$\pm$0.83	291.35$\pm$1.03	201.43$\pm$2.95^a	196.86$\pm$2.3^a

^a $p \leq 0.001$ CdCl₂ ve LSEO + CdCl₂ grubu; kontrol, taşıyıcı ve LSEO gruplarından anlamlı farklılık gösterdi.

Tablo 4.6. Seminifer tübül çapı ölçümü p değerleri

Gruplar	P değeri
Kontrol- CdCl ₂	≤ 0.001
Kontrol-LSEO + CdCl ₂	≤ 0.001
Taşıyıcı- CdCl ₂	≤ 0.001
Taşıyıcı- LSEO + CdCl ₂	≤ 0.001
LSEO- CdCl ₂	≤ 0.001
LSEO-LSEO + CdCl ₂	≤ 0.001

5. TARTIŞMA

Kadmiyum, metal kaplama endüstrisinde, nikel-kadmiyum pillerde, kimyasal gübrelerde, plastik ürünlerde ve boyalarda bulunabilen çevreyi kirleten bir maddedir. Kadmiyumun en tehlikeli özelliği biyolojik yarı ömrünün uzun olmasıdır. Hayat boyunca birikerek organizmaya zarar verir. Kadmiyum zehirlenmesi nefrotoksisite, hepatotoksite, akut respiratuar distres sendromu, osteoporoz, kardiyovasküler hastalıklar, ovaryum ve testis hasarı, prostat ve testis kanserleri ile nörodejeneratif hastalıklara yol açabilir. Gebelerde erken doğumlara ve düşük doğum ağırlıklı doğumlara neden olabilir (Rani vd., 2014; Winiarska-Mieczan, 2015). Kadmiyum lipid peroksidasyonu ile hücresel membran yapısını değiştiren serbest radikaller oluşturarak ve antioksidan savunma sistemini bozarak oksidatif strese yol açar (Akunna vd., 2017). Diğer organlarla karşılaştırıldığında, erkek gonadları olan testisler, aktif hücre bölünmeleri ve metabolizmaları nedeniyle toksik maddelere karşı daha savunmasızdır (Zini vd., 2009). Çeşitli çalışmalar Kadmiyum'a maruz kalan memelilerde testislerde vasküler endotel hücrelerinin, Leydig hücresi ve Sertoli hücrelerinin, hücrelerarası bağlantıların, KTB'nin bozulmasına, germ hücre kaybına, testis ödemine, inflamasyona ve steriliteye neden olduğunu göstermiştir (Rani vd., 2014; Janecki vd., 1992; Siu vd., 2009). Kadmiyumun KTB'yi spesifik sinyal iletim yolları ve MAPK gibi sinyal molekülleri yoluyla bozduğu üzerinde durulmaktadır (Al-Azemi vd., 2010).

İnfertilite, gelişmiş sanayilere sahip ülkelerde giderek artmaktadır. Dünya çapında çiftlerin yaklaşık %10-15'ini etkilemektedir (Walczak-Jedrzejowska vd., 2013). İnfertilitede çevresel faktörlerin rolü bulunmaktadır. Bunlar içinde çeşitli kimyasallar, ağır metaller, böcek ilaçları, ısı veya elektromanyetik radyasyona maruz kalma vb. sayılabilir. İnsanlar yaşamlarının farklı dönemlerinde çeşitli türlerde çevresel faktörlere maruz kalır ve bunların çoğu zararlıdır (Walczak-Jedrzejowska vd., 2013; Thonneau vd., 1998). Oksidatif stres, ROS üretimi ile bunların nötralizasyonundan ve uzaklaştırılmasından sorumlu antioksidan sistemin koruyucu etkisi arasındaki dengesizlikten kaynaklanır. Fazla ROS, hücre ve dokulara zarar veren patolojik bir tepkiye neden olur. Spermatozoa, ROS'un zararlı etkilerine çoğu hücreden daha fazla duyarlıdır çünkü hücre membranı, oksitlenebilen (lipid peroksidasyonu) büyük miktarlarda doymamış yağ asitleri içerir ve sitoplazması, ROS'u nötralize edebilen

enzimlerin yalnızca küçük konsantrasyonlarına sahiptir. Lipid oksidasyon süreci, zar bütünlüğünün kaybına ve geçirgenliğinde bir artışa, hücresel enzimlerin inaktivasyonuna, yapısal DNA hasarına ve hücre apoptozuna yol açar. İnfertil erkeklerin yaklaşık %25'inin spermalarında yüksek ROS seviyeleri ve sıklıkla düşük antioksidan kapasitesinin olduğu yönünde çalışmalar vardır (Lewis vd., 1997; Smith vd.,1996).

Kadmiyum toksisitesinden korunmak için doğal ürünlerin kullanılması yönünde çalışmalar yapılmaktadır. Deneysel kanıtlar, vitaminler ve antioksidan gibi farklı takviyelerin çeşitli dokular üzerindeki kadmiyum hasarına olumlu etkilerini doğrulamıştır (El-Demerdash vd., 2004; Wong vd., 2001). *Lavandula stoechas*, Labiatae (Lamiaceae) familyasının önemli bir üyesidir. Bu bitki yüksek aktif bileşik içeriği, antioksidan ve antienflamatuvar etkileri nedeniyle terapötik olarak birçok yararlı etki sunar. Bu çalışmada sıçanlarda CdCl₂'e bağlı testis hasarı oluşturarak LSEO uygulamasının testis hasarı üzerindeki olası koruyucu etkileri incelenmiştir.

Araştırmamızda CdCl₂ ile indüklenmiş sıçan testis hasarında histopatolojik inceleme sonucunda, sıçan ağırlıklarının kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı azaldığı, spermatogenik seri hücrelerin neredeyse tamamen yok olduğu, bazı tübüllerde apoptotik cisimciklerin ve çok çekirdekli polimorfik dev hücrelerin olduğu, Sertoli hücrelerinin ise yalnızca tunika albuginea'ya yakın alanlarda kısmen görüldüğü, Leydig hücrelerinin belirgin olarak azaldığı izlendi. Seminifer tübül çaplarına bakıldığında ise tübül çaplarının kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı seviyede küçülme gösterdiği saptanmıştır. Bu nedenle 20 gün boyunca 2 mg/kg CdCl₂'ün enjeksiyonunun testislerde belirgin histopatolojik hasara neden olduğu ve spermatogenezi tamamen ortadan kaldırdığı gösterilmiştir.

LSEO + CdCl₂ grubundaki hayvanların ağırlıklarının kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı fark göstermediği saptandı. LSEO'nun CdCl₂ uygulamasının oluşturduğu kilo kaybını engellediği gözlemlendi. Bununla birlikte LSEO'nun CdCl₂'e bağlı gelişen testis histopatolojisi üzerine belirgin bir koruyucu etki göstermediği tespit edildi.

Gruplar arasında Johnsen testiküler skor analizi sonuçlarına bakıldığında kontrol grubu ile CdCl₂ grubu ve LSEO + CdCl₂ grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı azalma görüldü. LSEO + CdCl₂ grubunda LSEO'nun koruyucu etki göstermediği saptandı.

CdCl_2 'ün testislerde neden olduğu hasar LSEO ile geri döndürülebilir bir mekanizma göstermediği gibi aynı zamanda önleyici bir etkide göstermemiştir.

Literatür incelendiğinde Nolan vd., (1986) intraperitoneal veya subkutan enjeksiyonla uygulanan CdCl_2 'e maruz kalmanın, ödem ve hemorajik inflamasyonu indüklediği bildirmiştir. Niewenhuis vd., (1980) Testiküler morfolojinin, ilk CdCl_2 maruziyetinden 3 ay sonra, dejenere seminifer tübüller, anormal Leydig hücresi, fibrozis ve azalmış testis boyutu ile büyük ölçüde değiştiğini bildirmiştir. De Sousa Predes vd., (2011) akut CdCl_2 kaynaklı testis hasarı, organın dejenerasyonu ve disfonksiyonu, seminifer tübüllerin vakuolizasyonu ile kendini gösterdiği bildirmiştir. Yüksek dozda CdCl_2 'den sonra seminifer tübüler çapta belirgin bir azalmanın yanı sıra tübüler hacim yoğunluğunun bariz bir şekilde azaldığı rapor edilmiştir. Nekroz, germinal hücrelerin geri dönüşümsüz dejenerasyonu ve germ hücrelerinin bazal membrandan ayrılması gibi germinal epitelde mikroskobik değişiklikler gözlemlenmiştir. Bizim çalışmamızda da literatürdeki bu kaynaklarla uyumlu şekilde intraperitoneal olarak CdCl_2 enjeksiyonunun testiste spermatogenik seri hücrelerin geri dönüşümsüz kaybı, hücrelerin bazal membrandan ayrılması, seminifer tübüllerin dejenerasyonu, seminifer tübüllerin çaplarının küçülmesi ve ağırlık kayıpları gibi sonuçları olduğunu desteklemektedir.

Sertoli hücreleri, spermatogonial kök hücrelerin kendi kendini yenilemesini ve olgun sperme farklılaşmasını desteklemede çok önemli roller oynar. Hücreler ayrıca testisin interstisyel ve bazal yönleri ile tübül adluminal boşluk içinde gelişen germ hücreleri arasında önemli bir bariyer oluşturur. Bu nedenle Sertoli hücre fonksiyonunun düzenlenmesi germinal hücre gelişimini doğrudan etkiler. In vitro çalışmalar, Sertoli hücresinin CdCl_2 'ün en savunmasız hedefi olduğunu göstermektedir (Clough vd., 1990). Yu vd., (2008) yaptıkları çalışmaya göre Sertoli hücrelerinde doza bağlı olarak CdCl_2 uygulamasından sonra geniş bir yelpazede yapısal ve morfolojik değişiklikler gözlenmiştir. CdCl_2 maruziyetinden sonra Sertoli hücrelerindeki morfolojik değişiklikler, apoptozun indüklenmesi ile ilişkili olduğunu göstermişlerdir. Bizarro vd., (2003) kadmiyum ile tedavi edilen fare, sıçan ve kanatlıların Sertoli hücrelerinde kromatin yoğunlaşması göstermişlerdir. Bizim çalışmamızda da literatürde olduğu gibi Sertoli hücreleri CdCl_2 'den etkilenmişlerdir. Normal koşullarda toksik ajanlara dirençli olan Sertoli hücrelerinin CdCl_2 toksisitesinden şiddetli olarak etkilendiği görüldü. Sertoli hücrelerin hasarı spermatogenik seri hücrelerinin de kaybına neden olmuştur. CdCl_2

birikimine bağlı, Sertoli hücreleri bazal lamina ve komşu hücrelerle olan bağlantılarını kaybederek tübül içerisinde dağılmış ve buna bağlı olarak spermatogenik seri hücre gelişimi de olamamıştır.

Memeli testislerindeki KTB, interstisyumda bulunan mikrodamarlardaki endotel hücrelerinin sıkı bağlantı (TJ) bariyerinden uzakta, bazal membran yakınındaki seminifer epiteldeki bitişik Sertoli hücreleri arasındaki özel bağlantılardan oluşur. (Cheng ve Mruk, 2012). Wong vd., (2005) yaptıkları çalışmada KTB'nin, testiste kadmiyum toksisitesinin birincil hedefi olduğunu ve KTB'nin kadmiyum tarafından bozulmasının, daha yüksek deneysel dozlarda oksidatif stres ve nekroza neden olduğunu göstermişlerdir. Hew vd., (1993) Sıçana 1 mg/kg dozunda ip olarak enjekte edilen tek doz kadmiyum, Sertoli hücrelerinin bazal bölgesindeki bağlantılarla bağlantılı bazal mikrofilament demetlerinin bozulmasına neden olduğunu söylemişlerdir. Maretová vd., (2015) kadmiyum, Sertoli-Sertoli hücre arayüzünde protein yeniden dağılımını teşvik ederek Sertoli hücrelerinin sıkı bağlantı-geçirgenlik bariyerini ve proteinlerin sentezini azalttığını, sıkı bağlantı proteinleri okludin, N-kadherin ve vimentinin, tek doz kadmiyum enjeksiyonu ile kısmen veya tamamen bozulduğunu göstermişlerdir. Bizim çalışmamızda da 2 mg/kg CdCl₂ enjeksiyonu ile Sertoli hücreleri arasındaki sıkı bağlantıların ortadan kaybolduğu bu sebeple hücrelerin bazal membrandan ayrıldığı ve dejenere olduğunun gösterilemesi ile bu çalışmaları desteklemektedir.

Herranz vd., (2010) düşük dozlarda kadmiyumun tekrarlayan enjeksiyonlarının spermatogenezi bozduğunu ve uzun bir süre boyunca düşük, oral dozlarda kadmiyum alımının, apoptozda kantitatif değişikliklere neden olduğunu göstermişlerdir. Aovagi vd., (2002) tüm testiküler germ hücre popülasyonlarının kadmiyumdan etkilenebildiğini ve germ hücrelerinin sayısında azalma, tüm gelişim aşamalarında anormal morfoloji, olgunlaşmamış hücrelerin lümene salındığını söylemişlerdir. Wang vd., (2017) yaptıkları çalışmada kadmiyuma maruz kalan farelerin testislerinin zarar gördüğünü, spermlerin hareketliliğinin ve canlılığının in vivo ve in vitro olarak önemli ölçüde azaldığını göstermişlerdir. Bizim çalışmamızda da literatürdeki kaynaklarla uyusur şekilde düşük dozlarda CdCl₂'ün 20 gün boyunca enjeksiyonu Sertoli hücreleri ve/veya spermatogenik seri hücrelerde apoptoza ve/veya nekroza neden olmuş, spermatogonia, spermatosit ve spermatidleri tübülerden geri dönüşümsüz olarak yok etmiştir. Bunun sonucuna bağlı

olarak tübüllerde ölü hücre birikimi olmuş veya bazı tübüllerde apoptotik cisimciklere rastlanmıştır.

Sebai vd., (2015) alloksan ile indüklenen diyabetik erkek sıçanlarda *Rosmarinus officinalis* uçucu yağlarının (ROEO) ve LSEO'nun üreme hasarına ve oksidatif strese karşı koruyucu etkisini değerlendirmeyi amaçlamışlardır. Çalışma sonucunda ROEO ve LSEO tedavisinin alloksan kaynaklı vücut ağırlığı artışındaki azalmaya, bağıl üreme organı ağırlıklarına, testosteron düzeyine ve ayrıca sperm kalitesi düşüşüne karşı koruma sağladığını ve diyabetik sıçanlarda erkek üreme organ sistemlerinin oksidatif hasarına karşı önemli ölçüde korunduğunu göstermişlerdir. Mahmoudi vd., (2018) yaptıkları çalışma ile $CdCl_2$ toksisitesinde yeşil çay ekstraktının sperm kalitesine etkisini değerlendirmişlerdir. Bu çalışma, $CdCl_2$ 'ün çok fazla ROS'u artırabildiğini, böylece spermatogonia, Sertoli ve Leydig hücrelerinin yok edildiğini göstermiştir. Ayrıca bu hücrelerin ölümünün artması, $CdCl_2$ grubundaki seminifer tübüldeki germinal tabakanın kalınlığında kontrollere göre azalmaya neden olmuştur. Araştırmacılar çalışma sonucuna göre tedavinin Yeşilçay + $CdCl_2$ grubunda $CdCl_2$ grubuna kıyasla sperm motilitesi, sperm sayısı ve testosteron ortalamalarının önemli ölçüde arttığını ortaya koymuşlardır. Bu çalışmanın sonuçlarına göre, yeşil çay özü tüketen $CdCl_2$ enjekte edilen sıçanların, $CdCl_2$ grubuna göre daha az gonadal değişiklik gösterdiğini göstermiştir. Araştırmacılar yeşil çay ile oksidanların etkisinin azaldığı ve gonadal doku hasarının daha uzun süre önlendiği söylemişlerdir. Bizim çalışmamız Mahmoudi vd., (2018) yaptığı çalışma ile $CdCl_2$ 'ün verdiği hasarlar bakımından uyumludur. Ancak onların çalışmasında tedavi grubunda yeşil çay $CdCl_2$ hasarını önlemiş ancak bizim çalışmamızda LSEO $CdCl_2$ hasarını önleyememiştir. Bizim çalışmamıza göre 20 gün boyunca 2 mg/kg kadmiyum enjeksiyonu testislerde geri dönülemez bir hasara neden olmaktadır. Çalışmamızda LSEO'nun antioksidan etkisiyle $CdCl_2$ 'e karşı koruyucu etkisi hedeflenmesine rağmen etki göstermemesinden dolayı çalışmamızın sonucu Mahmoudi vd., (2018) yaptığı çalışma sonucunu desteklememektedir. Bizim çalışmamızda LSEO'nun etki göstermemesinin nedeni dozunun yetersiz kalması veya sürenin yetersiz olması yanında daha olası olarak $CdCl_2$ 'ün doz ve süresinin uzun olması olabilir. $CdCl_2$ 'ün geri dönüşümsüz bir hücre ölümüne neden olması LSEO'nun etki gösterememesinin nedeni olabilir. Testis histopatolojisinde bir düzülme tespit edilmemekle birlikte $CdCl_2$ grubundaki hayvanlarda ağırlık azalmasının LSEO ile engellenmesi LSEO'nun hayvanların metabolizması üzerine olumlu etki gösterdiği kanıtlamaktadır. Selmi vd., (2018) de LSEO'nun erkek

farelerde malathion (M) maruziyetinin neden olduğu reprotoksisiteye karşı koruyucu etkisinin yanı sıra bu tür bir korumada yer alan olası mekanizmaları değerlendirmek için araştırma yapmışlardır. Araştırmacılar LSEO'nun malathion kaynaklı üreme organlarının kilo kaybına karşı önemli ölçüde koruduğunu, malathion intoksikasyonunun neden olduğu testis dokularının hasarlarını koruduğu ve iyileştirdiğini göstermişlerdir. Bu çalışmadaki bulgular bizim bulgularımız ile benzerlik göstermektedir.

Çalışmamız literatürde olan LSEO ile yapılmış çalışmalarla karşılaştırıldığında farklılıklar göstermektedir. Literatürdeki çalışmalar LSEO'nun oksidatif hasara karşı koruyucu etkisini, testis hasarına karşı koruyucu etkisini ve spermatogenezi iyileştirdiğini söylemişlerdir. Ancak bizim çalışmamızda LSEO + CdCl₂ grubunda LSEO testis hasarına karşı koruyucu etki gösterememiştir.

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

6.1. Sonuçlar

Bu çalışmada CdCl₂ ile sıçanlarda oluşturulan testis hasarı üzerine LSEO'nun olası koruyucu etkileri histokimyasal olarak araştırılmıştır.

Yapılan çalışmada CdCl₂ uygulaması hayvanların ağırlığını belirgin olarak azaltmıştır. Ancak LSEO uygulaması başarılı bir şekilde CdCl₂'ün neden olduğu ağırlık kaybını önlemiştir.

Çalışmamızda CdCl₂ uygulaması testislerde histopatolojik olarak incelendiğinde, Seminifer tübüllerde yapı bozukluğu, spermatogenik seri hücrelerin kaybı, Sertoli hücrelerinin dejenerasyonu, Leydig hücrelerin görünür şekilde azaldığı ve interstisyel dokuda fibrozis olduğu gösterilmiştir. Ayrıca tübüllerin bazal membranı ile peritübüler miyoid hücrelerin normal histolojik yapılarını koruduğu gösterilmiştir. LSEO + CdCl₂ grubuna bakıldığında ise CdCl₂ grubunda olduğu gibi Sertoli hücrelerinin ve spermatogenik seri hücrelerinin dejenere olduğu, Leydig hücrelerinin azaldığı, interstisyel dokuda fibrozis olduğu gösterilmiştir. Aynı zamanda tübül bazal membranı ile peritübüler miyoid hücrelerin korunduğu gözlemlendi. Sonuç olarak CdCl₂ grubuna göre bu grupta belirgin bir histopatolojik düzelme izlenmemiştir.

Johnsen testiküler skor analizine göre bulgular göz önüne alındığında CdCl₂ grubunda ortaya çıkan skor diğer gruplara kıyasla anlamlı şekilde düşüktür. Ancak LSEO + CdCl₂ grubuna bakıldığında çıkan skor CdCl₂ grubuyla neredeyse aynıdır. Ortaya çıkan skora bakıldığında histopatolojik görüntüler ile uyusmaktadır. Böylece LSEO uygulamasının CdCl₂'ün neden olduğu hasara karşı koruyucu etki gösteremediği Johnsen testiküler skor analizi ile de gösterilmiştir.

Seminifer tübüllerin çaplarının ortalamaları gruplar arasında karşılaştırıldığında CdCl₂ grubundaki tübül çapları kontrol, taşıyıcı ve LSEO gruplarına kıyasla oldukça küçülmüştür ($p \leq 0.001$). Bu sonuca göre CdCl₂ tübülleri dejenere ederek tübül çaplarında küçülmeye sebep olmuştur. LSEO + CdCl₂ grubuna bakıldığında bu grubun CdCl₂ ile

yakın sonuca sahip olduğu gösterilmiştir ($p \leq 0.001$). Tüböl çaplarındaki bu küölmenin hedeflenenin aksine olması LSEO'nun CdCl_2 'e karşı koruyucu etki sağlayamadığını göstermektedir.

Sonuç olarak 20 gün boyunca 50 mg/kg LSEO uygulaması deney sonunda hayvanların ağırlığının korunmasında 2 mg/kg CdCl_2 uyulmasına karşı koruyucu etki sağlamıştır. Ancak 50 mg/kg LSEO uygulaması 2/mg/kg CdCl_2 ile testislerde oluşan hasara karşı koruyucu etki gösterememiştir. Bunun sonuncunda histopatlojik incelemede, Johnsen skor analizinde ve Seminifer túböl çapı ölçümünde hedeflenen sonuçlar elde edilememiştir.

6.2. Öneriler

CdCl_2 'e maruziyetin daha düşük dozlarda, daha kısa sürelerle planlanarak ve ayrıca LSEO uygulamasının birkaç farklı dozda verilerek etkilerinin gözlenebileceğı yeni çalışmalar planlanmalıdır. Bu çalışmanın ileride planlanacak yeni çalışmalar için bir kaynak olabileceğı kanısındayız.

KAYNAKLAR

- Agarwal A, Sharma RK, Desai NR, Prabakaran S, Tavares A, Sabanegh (2009) E. Role of oxidative stress in pathogenesis of varicocele and infertility. *Urology*. 73(3):461-469. DOI: 10.1016/j.urology.2008.07.053
- Akunna G, Obikili E, Anyawu G, Esom E (2017) Evidences for Spermatozoa Toxicity and Oxidative Damage of Cadmium Exposure in Rats. *J of Pharmacol Toxicol*. 12:50–6. DOI: 10.3923 / jpt.2017.50.56
- Al-Azemi, M, Omu FE, Kehinde EO, Anim JT, Oriowo MA, Omu, AE (2010). Lithium protects against toxic effects of cadmium in the rat testes. *Journal of assisted reproduction and genetics*, 27(8), 469–476. DOI.org/10.1007/s10815-010-9426-3
- Ankle MR., Joshi PS (2011). A study to evaluate the efficacy of xylene-free hematoxylin and eosin staining procedure as compared to the conventional hematoxylin and eosin staining: An experimental study. *Journal of Oral and Maxillofacial Pathology: JOMFP*, 15(2), 161–167. DOI.org/10.4103/0973-029X.84482
- Aoyagi T, Ishikawa H, Miyaji K, Hayakawa K, Hata M (2002). Cadmium-induced testicular damage in a rat model of subchronic intoxication. *Reproductive Medicine And Biology*, 1(2), 59–63. DOI.org/10.1046/j.1445-5781.2002.00010.x
- Arifoğlu Y (2019). Her yönüyle Anatomi. İstanbul: İstanbul Medikal Sağlık ve Yayıncılık Hiz. Tic. Ltd. Şti.
- Barbier O, Jacquillet G, Tauc M, Cougnon M, Poujeol P (2005). Effect of heavy metals on, and handling by, the kidney. *Nephron. Physiology*, 99(4), p105–p110. DOI.org/10.1159/000083981
- Bekheet SH (2011). Comparative effects of repeated administration of cadmium chloride during pregnancy and lactation and selenium protection against cadmium toxicity on some organs in immature rats' offsprings. *Biological Trace Element Research*, 144(1-3), 1008–DOI.org/10.1007/s12011-011-9084-z
- Bernard A (2004). Renal dysfunction induced by cadmium: biomarkers of critical effects. *Biometals: an international journal on the role of metal ions in biology. Biochemistry and Medicine*, 17(5), 519–523. DOI.org/10.1023/b: biom.0000045731.75602.b9
- Bizarro P, Acevedo S, Niño-Cabrera G, Mussali-Galante P, Pasos F, Avila-Costa MR, Fortoul, T I (2003). Ultrastructural modifications in the mitochondrion of mouse Sertoli cells after inhalation of lead, cadmium or lead-cadmium mixture. *Reproductive Toxicology*, 17(5), 561–566. DOI.org/10.1016/s0890-6238(03)00096-0
- Blanco A, Moyano, R, Vivo J, Flores-Acuña R., Molina A, Blanco C, Agüera E, Monterde, JG (2007). Quantitative changes in the testicular structure in mice exposed to low doses of cadmium. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 23(1), 96–101. DOI.org/10.1016/j.etap.2006.07.008
- Chen N, Su P, Wang M, Li YM (2018). Ascorbic acid inhibits cadmium-induced disruption of the blood-testis barrier by regulating oxidative stress-mediated p38 MAPK pathways.

Environmental Science and Pollution Research International, 25(22), 21713–21720. DOI.org/10.1007/s11356-018-2138-4

- Cheng, CY, Mruk DD (2012). The blood-testis barrier and its implications for male contraception. *Pharmacological Reviews*, 64(1), 16–64. DOI.org/10.1124/pr.110.002790.
- Chung NP, Cheng CY (2001). Is cadmium chloride-induced inter-sertoli tight junction permeability barrier disruption a suitable in vitro model to study the events of junction disassembly during spermatogenesis in the rat testis? *Endocrinology*, 142(5), 1878–1888. DOI.org/10.1210/endo.142.5.8145.
- Clough SR, Welsh MJ, Payne AH., Brown CD, Brabec MJ. (1990). Primary rat Sertoli and interstitial cells exhibit a differential response to cadmium. *Cell Biology and Toxicology*, 6(1), 63–79. DOI.org/10.1007/BF00135027.
- Cotton FA (1999). "Survey of Transition-Metal Chemistry". Advanced Inorganic Chemistry (6th ed.). John Wiley and Sons.
- Cupertino MC, Novaes RD, Santos EC, Neves AC, Silva E, Oliveira JA, Matta SLP (2017). Differential Susceptibility of Germ and Leydig Cells to Cadmium-Mediated Toxicity: Impact on Testis Structure, Adiponectin Levels, and Steroidogenesis. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2017, 3405089. DOI.org/10.1155/2017/3405089.
- Daniel NN, Korsmeyer SJ (2004). Cell death: critical control points. *Cell*, 116(2), 205–219. DOI.org/10.1016/s0092-8674(04)00046-7.
- De Celis R, Pedrón-Nuevo N, Feria-Velasco A (1996) Toxicology of male reproduction in animals and humans. *Arch Androl*, 1996;37(3):201-218. DOI:10.3109/01485019608988523.
- de Kretser DM, Loveland KL, Meinhardt A, Simorangkir D, Wreford N (1998). Spermatogenesis. *Human Reproduction*, 13 Suppl 1, 1–8. DOI.org/10.1093/humrep/13.suppl_1.1
- de Souza Predes F, Monteiro JC, Matta SL, Garcia MC, Dolder H (2011). Testicular histomorphometry and ultrastructure of rats treated with cadmium and Ginkgo biloba. *Biological Trace Element Research*, 140(3), 330–341. DOI.org/10.1007/s12011-010-8702-5.
- El-Demerdash FM, Yousef MI, Kedwany FS, Baghdadi HH (2004). Cadmium-induced changes in lipid peroxidation, blood hematology, biochemical parameters and semen quality of male rats: protective role of vitamin E and beta-carotene. *Food and chemical toxicology : an international journal published for the British Industrial Biological Research Association*, 42(10), 1563–1571. DOI.org/10.1016/j.fct.2004.05.001
- Elinder CG, Lind B, Kjellström T, Linnman L, Friberg L (1976). Cadmium in kidney cortex, liver, and pancreas from Swedish autopsies. Estimation of biological half time in kidney cortex, considering calorie intake and smoking habits. *Archives Of Environmental Health*, 31(6), 292–302. DOI.org/10.1080/00039896.1976.10667239
- Elmallah Mohammed IY, Manal F, Elkhadragey Ebtesam M, Al-Olayan, Ahmed EAE (2017). "Protective Effect of Fragaria ananassa Crude Extract on Cadmium-Induced Lipid Peroxidation, Antioxidant Enzymes Suppression, and Apoptosis in Rat Testes" *International Journal of Molecular Sciences*, no. 5: 957. DOI.org/10.3390/ijms18050957

- Eşrefoğlu M. (2016) Özel Histoloji. İstanbul: İstanbul Medikal Sağlık ve Yayıncılık Hiz. Tic. Ltd. Şti.
- Foulkes EC (1985) Interactions between metals in rat jejunum: implications on the nature of cadmium uptake. *Toxicology*, ;37(1-2):117-125. DOI.org/10.1016/0300-483x(85)90118-0
- Galluzzi L, Maiuri MC, Vitale I, Zischka H, Castedo M, Zitvogel L, Kroemer G (2007). Cell death modalities: classification and pathophysiological implications. *Cell Death and Differentiation*, 14(7), 1237–1243. DOI.org/10.1038/sj.cdd.4402148
- Gartner LP (2017). Textbook of histology (5th). Elsevier.
- Godt J, Scheidig F, Grosse-Siestrup C, Esche V, Brandenburg P, Reich A, Groneberg DA. (2006). The toxicity of cadmium and resulting hazards for human health. *Journal of Occupational Medicine and Toxicology*, 1, 22. DOI.org/10.1186/1745-6673-1-22
- Goyer RA., Liu J, Waalkes MP (2004). Cadmium and cancer of prostate and testis. *Biometals: an international journal on the role of metal ions in biology, Biochemistry and Medicine*, 17(5), 555–558. DOI.org/10.1023/b: biom.0000045738.59708.20
- Gören A, Topçu G, Bilsel G, Bilsel M, Aydoğmuş Z, Pezzuto JM (2002). The chemical constituents and biological activity of essential oil of *Lavandula stoechas* ssp. *Stoechas*. *Zeitschrift für Naturforschung. C, Journal of Biosciences*, 57(9-10), 797–800. DOI.org/10.1515/znc-2002-9-1007
- Gunnarsson D, Svensson M, Selstam G, Nordberg G (2004). Pronounced induction of testicular PGF (2 alpha) and suppression of testosterone by cadmium-prevention by zinc. *Toxicology* 200, 49–58. DOI.org 10.1016/j.tox.2004.03.003
- Gunshin H, Mackenzie B, Berger UV, Gunshin Y, Romero MF, Boron WF, Nussberger S, Gollan JL, Hediger MA (1997). Cloning and characterization of a mammalian proton-coupled metal-ion transporter. *Nature*, 388(6641), 482–488. DOI.org/10.1038/41343
- Guo J, Nie X, Giebler M, Mlcochova H, Wang Y, Grow EJ, Kim R, Tharmalingam M, Matilionyte G, Lindskog C, Carrell DT, Mitchell RT, Goriely A, Hotelling JM, Cairns BR. (2020). The Dynamic Transcriptional Cell Atlas of Testis Development during Human Puberty. *Cell Stem Cell*, 26(2), 262–276.e4. DOI.org/10.1016/j.stem.2019.12.005
- Häcker G (2000). The morphology of apoptosis. *Cell and Tissue Research*, 301(1), 5–17. DOI.org/10.1007/s004410000193
- Haffor AS, Abou-Tarboush, FM (2004). Testicular cellular toxicity of cadmium: transmission electron microscopy examination. *Journal of Environmental Biology*, 25(3), 251–258.
- Hall JE (2016). Guyton and Hall textbook of medical physiology (13th ed.). Elsevier.
- Hayes, Andrew Wallace (2007). Principles and Methods of Toxicology. Philadelphia: CRC Press.

- Hengartner MO (2001). Apoptosis: corralling the corpses. *Cell*, 104(3), 325–328. Haffor AS, Abou-Tarboush, FM (2004). Testicular cellular toxicity of cadmium: transmission electron microscopy examination. *Journal of Environmental Biology*, 25(3), 251–258. DOI.org/10.1016/s0092-8674(01)00219-7.
- Henson MC, Chedrese PJ (2004). Endocrine disruption by cadmium, a common environmental toxicant with paradoxical effects on reproduction. *Experimental biology and medicine*, 229(5), 383–392. DOI.org/10.1177/153537020422900506.
- Hew K, Heath GL, Jiwa AH, Welsh MJ (1993). Cadmium in vivo causes disruption of tight junction-associated microfilaments in rat Sertoli cells. *Biology of Reproduction*, 49(4), 840–849. DOI.org/10.1095/biolreprod49.4.840.
- Holleman AF, Wiberg E, Wiberg N (1985). "Kadmiyum". *Lehrbuch der Anorganischen Chemie*, 91–100. Walter de Gruyter.
- Hotz P, Buchet JP, Bernard A, Lison D, Lauwerys R (1999). Renal effects of low-level environmental cadmium exposure: 5-year follow-up of a subcohort from the Cadmibel study. *Lancet*, 354(9189), 1508–1513. DOI.org/10.1016/s0140-6736(99)91145-5.
- Hu H, Lu X, Cen X, Chen X, Li F, Zhong S (2014). RNA-Seq identifies key reproductive gene expression alterations in response to cadmium exposure. *BioMed Research International*, 2014, 529271. DOI.org/10.1155/2014/529271.
- Il'yasova D, Schwartz GG (2005). Cadmium and renal cancer. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 207(2), 179–186. DOI.org/10.1016/j.taap.2004.12.005.
- Jahan S, Zahra A, Irum U, Iftikhar N, Ullah H (2014). Protective effects of different antioxidants against cadmium induced oxidative damage in rat testis and prostate tissues. *Systems Biology in Reproductive Medicine*, 60(4), 199–205. DOI.org/10.3109/19396368.2014.912363.
- Janecki A, Jakubowiak A, Steinberger A (1992). Effect of cadmium chloride on transepithelial electrical resistance of Sertoli cell monolayers in two-compartment cultures--a new model for toxicological investigations of the "blood-testis" barrier in vitro. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 112(1), 51–57. DOI.org/10.1016/0041-008x(92)90278-z
- Järup L. (2003). Hazards of heavy metal contamination. *British medical bulletin*, 68, 167–182. DOI.org/10.1093/bmb/ldg032
- Jin T, Nordberg M, Frech W, Dumont X, Bernard A, Ye TT, Kong Q, Wang Z, Li P, Lundström NG, Li Y, Nordberg, G. F. (2002). Cadmium biomonitoring and renal dysfunction among a population environmentally exposed to cadmium from smelting in China (ChinaCad). *Biometals: an international journal on the role of metal ions in biology, Biochemistry and Medicine*, 15(4), 397–410. DOI.org/10.1023/a:1020229923095
- Johnsen S. G. (1970). Testicular biopsy score count--a method for registration of spermatogenesis in human testes: normal values and results in 335 hypogonadal males. *Hormones*, 1(1), 2–25. DOI.org/10.1159/000178170
- Johnson MD, Kenney N, Stoica A, Hilakivi-Clarke L, Singh B, Chepko G, Clarke R, Sholler PF, Lirio AA, Foss C, Reiter R, Trock B, Paik S, Martin MB (2003). Cadmium mimics the in

- vivo effects of estrogen in the uterus and mammary gland. *Nature Medicine*, 9(8), 1081–1084. DOI.org/10.1038/nm902.
- Kazantzis G (1979). Renal tubular dysfunction and abnormalities of calcium metabolism in cadmium workers. *Environmental Health Perspectives*, 28, 155–159. DOI.org/10.1289/ehp.7928155.
- Khanna S, Mitra S, Lakhera PC, Khandelwal S (2016). N-acetylcysteine effectively mitigates cadmium-induced oxidative damage and cell death in Leydig cells in vitro. *Drug and Chemical Toxicology*, 39(1), 74–80. DOI.org/10.3109/01480545.2015.1028068.
- Kolonel LN. (1976) Association of cadmium with renal cancer. *Cancer*. ;37(4):1782-1787. DOI.org/10.1002/1097-0142(197604)37:4<1782::aid-cnrcr2820370424>3.0.co;2-f.
- Kroemer G, El-Deiry WS, Golstein P, Peter ME, Vaux D, Vandenabeele P, Zhivotovsky B, Blagosklonny MV, Malorni W, Knight RA, Piacentini M, Nagata S, Melino G (2005). Classification of cell death: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death. *Cell Death and Differentiation*, 12 Suppl 2, 1463–1467. DOI.org/10.1038/sj.cdd.4401724.
- Kroemer G, Galluzzi L, Brenner C (2007). Mitochondrial membrane permeabilization in cell death. *Physiological Reviews*, 87(1), 99–163. DOI.org/10.1152/physrev.00013.2006.
- Kulabas SS, Ipek H, Tufekci AR (2018) Ameliorative potential of *Lavandula stoechas* in metabolic syndrome via multitarget interactions. *J Ethnopharmacol*. 223:88-98. DOI.org 10.1016/j.jep.2018.04.043.
- Kuruş M (2020). Histoloji Teknikler-Hücre-Doku-Sistemler Moleküller Laboratuvar-Klinik Yönleriyle Yaklaşımlar. Ankara: Akademisyen Kitabevi A.Ş.
- Lansdown AB, Sampson B (1996). Dermal toxicity and percutaneous absorption of cadmium in rats and mice. *Laboratory Animal Science*, 46(5), 549–554.
- Leite RP, Predes FS, Monteiro JC, Freitas KM, Wada RS, Dolder H (2013). Advantage of Guaraná (*Paullinia cupana* Mart.) supplementation on cadmium-induced damages in testis of adult Wistar rats. *Toxicologic pathology*, 41(1), 73–79. DOI.org/10.1177/0192623312447541.
- Lewis SE, Sterling ES, Young IS, Thompson W (1997). Comparison of individual antioxidants of sperm and seminal plasma in fertile and infertile men. *Fertility and Sterility*, 67(1), 142–147. DOI.org/10.1016/s0015-0282(97)81871-7.
- Li X, Liu J, Wu S, Zheng W, Li H, Bao S, Chen Y, Guo X, Zhang L, Ge RS (2018). In utero single low-dose exposure of cadmium induces rat fetal Leydig cell dysfunction. *Chemosphere*, 194, 57–66. DOI.org/10.1016/j.chemosphere.2017.11.159
- Liu Q, Gu JH, Yuan Y, Liu XZ, Wang YJ, Wang HD, Liu ZP, Wang ZY, Bian JC (2013). Effect of cadmium on rat Leydig cell testosterone production and DNA integrity in vitro. *Biomedical and Environmental Sciences: BES*, 26(9), 769–773. DOI.org/10.3967/0895-3988.2013.09.009.
- Luis M. Herranz, Fernando Teba, Rocío Martín, Ildefonso Ingelmo, Vicente Gómez, J. Codesal, José M. Pozuelo, B. Oltra, E. Serna, & Luis Santamaría. (2010). Quantitative Changes in Rat Seminiferous Epithelium After Chronic Administration of Low Doses of Cadmium

- and Zinc: A Stereological Study. *The Open Andrology Journal*, 2(1). DOI.org/10.2174/1876827X01002010027.
- Mahmoudi R, Azizi A, Abedini S, Hemayatkhah Jahromi V, Abidi H, Jafari Barmak M (2018). Green tea improves rat sperm quality and reduced cadmium chloride damage effect in spermatogenesis cycle. *Journal of Medicine and Life*, 11(4), 371–380. DOI.org/10.25122/jml-2018-0005.
- Majno G, Joris I (1995). Apoptosis, oncosis, and necrosis. An overview of cell death. *The American Journal of Pathology*, 146(1), 3–15.
- Marettová E, Mareta M, Legáth J (2015). Toxic effects of cadmium on testis of birds and mammals: a review. *Animal Reproduction Science*, 155, 1–10. DOI.org/10.1016/j.anireprosci.2015.01.007.
- McCarthy NJ, Evan GI (1998). Methods for detecting and quantifying apoptosis. *Current Topics in Developmental Biology*, 36, 259–278. DOI.org/10.1016/s0070-2153(08)60507-4.
- Meija J, Coplen T, Berglund M, Brand W, De Bièvre P, Gröning M, Holden N, Irrgeher J, Loss R, Walczyk T, Prohaska T (2016). Atomic weights of the elements 2013 (IUPAC Technical Report). *Pure and Applied Chemistry*, 88(3), 265–291. DOI.org/10.1515/pac-2015-0305.
- Miki M., Ohishi N, Nakamura E, Furumi A, Mizuhashi F (2018). Improved fixation of the whole bodies of fish by a double-fixation method with formalin solution and Bouin's fluid or Davidson's fluid. *Journal of Toxicologic Pathology*, 31(3), 201–206. DOI.org/10.1293/tox.2018-0001.
- Moore KL, Persaud TVN, Torchia MG (2016). *The developing human: clinically oriented embryology* (10th). Amsterdam; Elsevier.
- Morielli T, O'Flaherty C (2015). Oxidative stress impairs function and increases redox protein modifications in human spermatozoa. *Reproduction*, 149(1), 113–123. DOI.org/10.1530/REP-14-0240.
- Morrow H (2010). "Cadmium and Cadmium Alloys". *Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology*. pp. 1–36. DOI.org/10.1002/0471238961.0301041303011818.a01.pub3.
- Niewenhuis R. J. (1980). Effects of cadmium upon regenerated testicular vessels in the rat. *Biology of Reproduction*, 23(1), 171–179. DOI.org/10.1095/biolreprod23.1.171
- Nna VU, Ujah GA, Mohamed M, Etim KB, Igba BO, Augustine ER, Osim EE (2017). Cadmium chloride-induced testicular toxicity in male wistar rats; prophylactic effect of quercetin, and assessment of testicular recovery following cadmium chloride withdrawal. *Biomedicine & pharmacotheraphi*, 94, 109–123. DOI.org/10.1016/j.biopha.2017.07.087
- Nogawa K, Kobayashi E, Okubo Y, Suwazono Y (2004). Environmental cadmium exposure, adverse effects and preventive measures in Japan. *Biometals: an international journal on the role of metal ions in biology, Biochemistry, and Medicine*, 17(5), 581–587. DOI.org/10.1023/b: biom.0000045742.81440.9c.
- Nolan CV, Shaikh ZA (1986). The vascular endothelium as a target tissue in acute cadmium toxicity. *Life Sciences*, 39(16), 1403–1409. DOI.org/10.1016/0024-3205(86)90543-6.

- Norbury CJ, Hickson ID (2001). Cellular responses to DNA damage. *Pharmacology and Toxicology*, 41, 367–401. DOI.org/10.1146/annurev.pharmtox.41.1.367.
- Nordberg GF (2004). Cadmium and health in the 21st century--historical remarks and trends for the future. *Biometals: an international journal on the role of metal ions in biology, Biochemistry and Medicine*, 17(5), 485–489. DOI.org/10.1023/b:biom.0000045726.75367.85.
- O'Brien MA, Kirby R (2008). Apoptosis: A review of pro-apoptotic and anti-apoptotic pathways and dysregulation in disease. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, 18(6), 572–585. DOI.org/10.1111/j.1476-4431.2008.00363.x.
- Orłowski C, Piotrowski JK (2003). Biological levels of cadmium and zinc in the small intestine of non-occupationally exposed human subjects. *Human & Experimental Toxicology*, 22(2), 57–63. DOI.org/10.1191/0960327103ht326oa
- O'Shaughnessy PJ, Baker PJ, Monteiro A, Cassie S, Bhattacharya S, Fowler PA. (2007). Developmental changes in human fetal testicular cell numbers and messenger ribonucleic acid levels during the second trimester. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 92(12), 4792–4801. DOI.org/10.1210/jc.2007-1690.
- Piasek M, Laskey JW (1999). Effects of in vitro cadmium exposure on ovarian steroidogenesis in rats. *Journal of Applied Toxicology : JAT*, 19(3), 211–217. DOI.org/10.1002/(sici)1099-1263(199905/06)19:3<211::aid-jat568>3.0.co;2-4.
- Prozialeck, WC, Lamar PC (1999). Interaction of cadmium (Cd(2+)) with a 13-residue polypeptide analog of a putative calcium-binding motif of E-cadherin. *Biochimica Et Biophysica Acta*, 1451(1), 93–100. DOI.org/10.1016/s0167-4889(99)00077-4.
- Rajendar B, Bharavi K, Rao GS, Kishore PV, Kumar PR, Kumar CS, Kumar DS (2011). Protective effect of alpha-tocopherol on biochemical and histological alterations induced by cadmium in rat testes. *Indian Journal of Physiology and Pharmacology*, 55(3), 213–220. Erişim Adresi: <https://imsear.searo.who.int/handle/123456789/146038>
- Rani A, Kumar A, Lal A, Pant M (2014). Cellular mechanisms of cadmium-induced toxicity: a review. *International Journal of Environmental Health Research*, 24(4), 378–399. DOI.org/10.1080/09603123.2013.835032.
- Rebourcet D, O'Shaughnessy PJ, Monteiro A, Milne L, Cruickshanks L, Jeffrey N, Guillou F, Freeman TC, Mitchell RT, Smith LB (2014). Sertoli cells maintain Leydig cell number and peritubular myoid cell activity in the adult mouse testis. *PloS one*, 9(8), e105687. DOI.org/10.1371/journal.pone.0105687
- Rebourcet D, Wu J, Cruickshanks L, Smith S E, Milne L, Fernando A, Wallace RJ, Gray CD, Hadoke PW, Mitchell RT, O'Shaughnessy PJ, Smith LB (2016). Sertoli Cells Modulate Testicular Vascular Network Development, Structure, and Function to Influence Circulating Testosterone Concentrations in Adult Male Mice. *Endocrinology*, 157(6), 2479–2488. DOI.org/10.1210/en.2016-1156.
- Reed JC (1997). Bcl-2 family proteins: regulators of apoptosis and chemoresistance in hematologic malignancies. *Seminars in Hematology*.
- Ross MH, Pawlina W (2014). *Histology: a text and atlas : with correlated cell and molecular biology* (6th). Wolters Kluwer Health.

- Sadik, N. A. (2008). Effects of diallyl sulfide and zinc on testicular steroidogenesis in cadmium-treated male rats. *J. Biochem. Mol. Toxicol.* 22, 345–353. DOI.org/ 10.1002/jbt.20247.
- Sahmoun AE, Case LD, Jackson SA, Schwartz GG (2005). Cadmium and prostate cancer: a critical epidemiologic analysis. *Cancer Investigation*, 23(3), 256–263. DOI.org/10.1081/cnv-200055968.
- Sebai H, Selmi S, Rtibi K, Gharbi N, Sakly M (2015). Protective Effect of *Lavandula stoechas* and *Rosmarinus officinalis* essential oils against reproductive damage and oxidative stress in alloxan-induced diabetic rats. *Journal of Medicinal Food*, 18(2), 241–249. DOI.org/10.1089/jmf.2014.0040.
- Sebai H, Selmi S, Rtibi K, Souli A, Gharbi N, Sakly M (2013). Lavender (*Lavandula stoechas* L.) essential oils attenuate hyperglycemia and protect against oxidative stress in alloxan-induced diabetic rats. *Lipids in Health and Disease*, 12, 189. DOI.org/10.1186/1476-511X-12-189.
- Seidal, K., Jørgensen, N., Elinder, C. G., Sjögren, B., & Vahter, M. (1993). Fatal cadmium-induced pneumonitis. *Scandinavian journal of work, environment & health*, 19(6), 429–431. DOI.org/10.5271/sjweh.1450
- Selmi S, Jallouli M, Gharbi N, Marzouki L (2015). Hepatoprotective and Renoprotective Effects of Lavender (*Lavandula stoechas* L.) Essential Oils Against Malathion-Induced Oxidative Stress in Young Male Mice. *Journal of Medicinal Food*, 18(10), 1103–1111. DOI.org/10.1089/jmf.2014.0130.
- Selmi S, Rtibi K, Grami D, Sebai H, Marzouki L (2018). *Lavandula stoechas* essential oils protect against Malathion-induced reproductive disruptions in male mice. *Lipids in Health and Disease*, 17(1), 253. DOI.org/10.1186/s12944-018-0891-5.
- Sharpe RM, McKinnell C, Kivlin C, Fisher JS (2003). Proliferation and functional maturation of Sertoli cells, and their relevance to disorders of testis function in adulthood. *Reproduction*, 125(6), 769–784. DOI.org/10.1530/rep.0.1250769.
- Siu ER, Mruk DD, Porto CS, Cheng CY (2009). Cadmium-induced testicular injury. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 238(3), 240–249. DOI.org/10.1016/j.taap.2009.01.028.
- Smith LB, O'Shaughnessy PJ, Rebourcet D (2015). Cell-specific ablation in the testis: what have we learned?. *Andrology*, 3(6), 1035–1049. DOI.org/10.1111/andr.12107.
- Smith R, Vantman D, Ponce J, Escobar J, Lissi E (1996). Total antioxidant capacity of human seminal plasma. *Human Reproduction*, 11(8), 1655–1660. DOI.org/10.1093/oxfordjournals.humrep.a019465.
- Suzuki JS, Kodama N, Molotkov A, Aoki E, Tohyama C (1998). Isolation and identification of metallothionein isoforms (MT-1 and MT-2) in the rat testis. *The Biochemical Journal*, 334 (Pt 3)(Pt 3), 695–701. DOI.org/10.1042/bj3340695.
- Taylor WR (1988). Permeation of barium and cadmium through slowly inactivating calcium channels in cat sensory neurones. *The Journal of Physiology*, 407, 433–452. DOI.org/10.1113/jphysiol.1988.sp017424.

- Thompson J, Bannigan J (2008). Cadmium: toxic effects on the reproductive system and the embryo. *Reproductive Toxicology*, 25(3), 304–315. DOI.org/10.1016/j.reprotox.2008.02.001.
- Thonneau P, Bujan L, Multigner L, Mieusset R. (1998) Occupational heat exposure and male fertility: a review. *Hum Reprod*. 13(8):2122-2125. DOI.org/10.1093/humrep/13.8.2122.
- Tian H, Chen S, Leng Y, Li T, Li Z, Chen H, Zhang Q (2018). Exposure to cadmium during gestation and lactation affects development and function of Leydig cells in male offspring. *Environmental toxicology*, 33(3), 351–360. DOI.org/10.1002/tox.22522.
- Tsujimoto Y, Finger LR, Yunis J, Nowell PC, Croce CM (1984). Cloning of the chromosome breakpoint of neoplastic B cells with the t(14;18) chromosome translocation. *Science*, 226(4678), 1097–1099. DOI.org/10.1126/science.6093263.
- Tunc O, Bakos HW, Tremellen K (2011) Impact of body mass index on seminal oxidative stress. *Andrologia*. 43(2):121-128. DOI.org/10.1111/j.1439-0272.2009.01032.x.
- Waalkes MP, Rehm S, Riggs CW, Bare RM, Devor DE, Poirier LA, Wenk ML, Henneman JR, Balaschak MS (1988). Cadmium carcinogenesis in male Wistar [Crl:(WI)BR] rats: dose-response analysis of tumor induction in the prostate and testes and at the injection site. *Cancer Research*, 48(16), 4656–4663. Erişim Adresi: <https://aacrjournals.org/cancerres/article/49/15/4282/494216/Cadmium-Carcinogenesis-in-Male-Wistar-Crl-WI-BR>
- Walczak-Jedrzejowska R, Wolski JK, Slowikowska-Hilczek J (2013). The role of oxidative stress and antioxidants in male fertility. *Central European Journal of Urology*, 66(1), 60–67. DOI.org/10.5173/ceju.2013.01.art19.
- Walker JH (2002). Cell and molecular biology concepts and experiments (3rd ed.): Karp, G. *Biochem. Mol. Biol. Educ.*, 30: 274-275. DOI.org/10.1002/bmb.2002.494030049993.
- Wang H (2017). Exposure to Cadmium Impairs Sperm Functions by Reducing CatSper in Mice. FullText- Cellular Physiology and Biochemistry 2017, Vol. 42, No. 1- Karger Publishers. Erişim Adresi: <https://www.karger.com/Article/FullText/477113>.
- Wang Y, Ni C, Li X, Lin Z, Zhu Q, Li L, Ge RS (2019). Phthalate-Induced Fetal Leydig Cell Dysfunction Mediates Male Reproductive Tract Anomalies. *Frontiers in Pharmacology*, 10, 1309. DOI.org/10.3389/fphar.2019.01309.
- Wester RC, Maibach HI, Sedik L, Melendres J, DiZio S, Wade M (1992). In vitro percutaneous absorption of cadmium from water and soil into human skin. Fundamental and applied toxicology: *Official Journal of The Society of Toxicology*, 19(1), 1–5. DOI.org/10.1016/0272-0590(92)90021-9.
- Winiarska-Mieczan A (2015). The potential protective effect of green, black, red and white tea infusions against adverse effect of cadmium and lead during chronic exposure - A rat model study. *Regulatory Toxicology and Pharmacology: RTP*, 73(2), 521–529. DOI.org/10.1016/j.yrtph.2015.10.007
- Wong C H, Mruk DD, Siu MK, Cheng CY (2005). Blood-testis barrier dynamics are regulated by α 2-macroglobulin via the c-Jun N-terminal protein kinase pathway. *Endocrinology*, 146(4), 1893–1908. DOI.org/10.1210/en.2004-1464

- Wong WY, Flik G, Groenen PM, Swinkels DW, Thomas CM, Copius-Peereboom JH, Merkus H. M, Steegers-Theunissen RP (2001). The impact of calcium, magnesium, zinc, and copper in blood and seminal plasma on semen parameters in men. *Reproductive Toxicology*, 15(2), 131–136. DOI.org/10.1016/s0890-6238(01)00113-7.
- Wu S, Yan M, Ge R, Cheng CY (2020). Crosstalk between Sertoli and Germ Cells in Male Fertility. *Trends in Molecular Medicine*, 26(2), 215–231. DOI.org/10.1016/j.molmed.2019.09.006
- Xiao X, Mruk DD, Tang EI, Wong CK, Lee WM, John CM, Turek PJ, Silvestrini B, Cheng CY (2014). Environmental toxicants perturb human Sertoli cell adhesive function via changes in F-actin organization mediated by actin regulatory proteins. *Human reproduction*, 29(6), 1279–1291. DOI.org/10.1093/humrep/deu011
- Yu X, Hong S, Faustman EM (2008). Cadmium-induced activation of stress signaling pathways, disruption of ubiquitin-dependent protein degradation and apoptosis in primary rat Sertoli cell-gonocyte cocultures. *Toxicological sciences*, 104(2), 385–396. DOI.org/10.1093/toxsci/kfn087
- Zalups RK, Ahmad S (2003). Molecular handling of cadmium in transporting epithelia. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 186(3), 163–188. DOI.org/10.1016/s0041-008x(02)00021-2
- Zeiss CJ (2003). The apoptosis-necrosis continuum: insights from genetically altered mice. *Veterinary pathology*, 40(5), 481–495. DOI.org/10.1354/vp.40-5-481
- Zhang J, Huang B, Hu G, Zhan X, Xie T, Li S, Zhang X, Li H, Ge RS, Xu Y (2018). Aldosterone Blocks Rat Stem Leydig Cell Development In Vitro. *Frontiers in Endocrinology*, 9, 4. DOI.org/10.3389/fendo.2018.00004
- Zhao LL, Ru YF, Liu M, Tang JN, Zheng JF, Wu B, Gu YH, Shi HJ (2017). Reproductive effects of cadmium on sperm function and early embryonic development in vitro. *PloS one*, 12(11), e0186727. DOI.org/10.1371/journal.pone.0186727
- Ziegler U, Groscurth P (2004). Morphological features of cell death. *News in physiological sciences: an international journal of physiology produced jointly by the International Union of Physiological Society. Physiological Society*, 19, 124–128. DOI.org/10.1152/nips.01519.2004
- Zini A, San Gabriel M, Baazeem A (2009). Antioxidants and sperm DNA damage: a clinical perspective. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, 26(8), 427–432. DOI.org/10.1007/s10815-009-9343-5

EKLER

Ek 1: ETİK KURUL ONAYI



MUĞLA SITKI KOÇMAN ÜNİVERSİTESİ

Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi Hayvan Deneyleri
Yerel Etik Kurulu (MUDEM-HADYEK) Kararı

Toplantı Tarihi	Karar No	Proje Yürütücüsü
09/04/2021	20/21	Prof. Dr. Feral ÖZTÜRK

"Lavandula stoechas'ın kadmiyum klorür ile sıçanlarda indüklenen testis hasarındaki olası koruyucu etkilerinin histopatolojik olarak araştırılması" başlıklı bilimsel araştırma etik kurulumuzda görüşülmüş olup, çalışmanın etik kurallara uygun olduğuna "Oybirliği" ile karar verilmiştir.

GÖREVİ	ADI SOYADI
Başkan	Prof. Dr. Artay YAĞCI
Başkan V.	Prof. Dr. Aziz BÜLBÜL
Üye	Prof. Dr. Fatmagül YUR
Üye	Prof. Dr. Ömer UÇAR
Üye	Doç. Dr. Nesrin Filiz BAŞARAN
Üye	Dr. Öğr. Üyesi Nurettin ÇANAKOĞLU
Üye	Dr. Öğr. Üyesi İlker AKARKEN
Üye	Dr. Öğr. Üyesi Egemen KAYA
Üye	Dr. Öğr. Üyesi Serhat SEZGİN
Üye	İhsan AŞÇIOĞLU
Üye	Volkan YILDIZ

Ek 2: KURUM İZİN ONAYI

05.12.2022

T.C.
MUĞLA SITKI KOÇMAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜNE;

MSKÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histo-loji ve Embriyoloji Tezli Yüksek Lisans programı öğrencisi 1844050001 numaralı Süleyman BAKAR, *"Lavandula Stoechas'ın Kadmıyım Klorür ile Sıçanlarda İndüklenen Testis Hasarındaki Olası Korumucu Etkilerinin Histopatolojik Olarak Araştırılması"* başlıklı tez projesinin laboratuvar çalışmalarını Haziran 2022-Ekim 2022 tarihleri arasında MSKÜ Tıp Fakültesi Histo-loji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Histokimya laboratuvarlarında yapmıştır.

Bilgilerinize arz ederim.

Prof. Dr. Feral ÖZTÜRK
Histo-loji ve Embriyoloji
Anabilim Dalı Başkanı

Ek 3: ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Süleyman Bakar

Yabancı Dili : İngilizce

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl) : Yüksek Lisans Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı 2019-

Lise : Lüleburgaz Mesleki ve Teknik Anadolu Lisesi

Lisans : Bingöl Üniversitesi/Fen-Edebiyat Fakültesi/Moleküler Biyoloji ve Genetik

Yüksek Lisans : Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı

Çalıştığı Kurum / Kurumlar ve Yıl :

Yayınları (SCI ve diğer) :

Diğer Konular :